Beiträge zur Konstitutionsermittlung des Digipurpurogenins

von

HANS-WILHELM MARQUARDT

BEITRÄGE ZUR KONSTITUTIONSERMITTLUNG

DES DIGIPURPUROGENINS

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät der Universität Hamburg

Vorgelegt von
Hans-Wilhelm Marquardt
aus Soltau

H a m b u r g
1 9 6 1

Genehmigt von der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Hamburg

auf Antrag von Herrn Professor Dr. R. Tschesche

Hamburg, den 8. Februar 1961

gez. Professor Dr. E. Otremba

(D e k a n)

Fotodruck: Mikrokopie G.m.b.H. München 2, Weinstr. 4

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom Januar 1959 bis Oktober 1960 in der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts Hamburg ausgeführt.

Meinem sehr verehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. Rudolf Tschesche,

danke ich herzlich für die Problemstellung, sowie für zahlreiche Anregungen und wertvolle Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Der Dr. Karl Merck - Stiftung danke ich vielmals für die Gewährung eines Stipendiums.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548107_0085

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	5
II. Allgemeiner Teil	8
1. Isolierung des Ausgangsmaterials	8
a) Allgemeines	8
b) Digipurpurin	9
c) Digipurpurogenin I	1o
2. Isomerisierungs-Reaktionen	14
a) Allgemeines	14
b) Digipurpurogenin II	15
c) Iso-Digipurpurogenin	16
d) Iso-Digipurpurogenin-ketal	18
3. Oxydations-Versuche	2o
a) Allgemeines	2o
b) OPPENAUER-Oxydation von Dpng I	22
c) KILIANI-Oxydation von Dpng I und II	22
d) Eigene Versuche	23
4. Acetylierungs-Reaktionen	26
a) Allgemeines	26
b) Digipurpurogenin(I)-Acetat	27
c) Digipurpurogenin(II)-Acetat	27
d) Iso-Digipurpurogenin-Acetat	28
e) Iso-Digipurpurogenin-Acetat-ketal	28

Seite

5. Wasserabspaltungs-Versuche 29

a) Allgemeines 29

b) Säure-Methode 29

c) Thionylchlorid-Methode 3o

6. Konstitutionsbetrachtungen 33

a) Allgemeines 33

b) Die Δ^5-3ß-OH-Gruppierung 34

c) Die Keto-Gruppe in C-2o 35

d) Die OH-Gruppe an C-12 36

e) Die tertiäre OH-Gruppe in 14α 37

f) Oxydationsprodukte 38

g) Wasserabspaltungsprodukte 39

III. Experimenteller Teil 42

1. Allgemeines 42

2. Digipurpurin 45

3. Digipurpurogenin I 49

4. Digipurpurogenin II 53

5. Iso-Digipurpurogenin 56

6. Iso-Digipurpurogenin-ketal 58

7. OPPENAUER-Oxydationsprodukte 61

8. Digipurpurogenin(I)-Acetat 66

9. Digipurpurogenin(II)-Acetat 66

1o. Iso-Digipurpurogenin-Acetat 67

11. Iso-Digipurpurogenin-Acetat-ketal 67

12. Wasserabspaltungs-Versuche 68

IV. Zusammenfassung 71

V. Literaturübersicht 72

I. E i n l e i t u n g

Der Name "Digipurpurin" weist auf die Pflanze Digitalis purpurea hin, aus deren Blätter diese Verbindung isoliert worden ist (1).

Es sind d r e i Gruppen von Inhaltstoffen der Digitalis-Arten bekannt, die nach ihren Aglykonen als Cardenolid-, Spirostanol- und Digitanol-Glykoside bezeichnet werden(2/3).

Die Glykoside der ersten Gruppe enthalten Genine mit 23 Kohlenstoff-Atomen. Sie sind herzwirksam und geben eine Reihe typischer Farbreaktionen sowie eine charakteristische Absorption im ultravioletten Licht. Alle diese Besonderheiten gehen auf einen ungesättigten Lacton-Ring am C-Atom 17 des Steroid-Aglykons zurück (4/5/6/7).

Die Vertreter der zweiten Gruppe enthalten Genine mit 27 Kohlenstoff-Atomen. Sie sind neutrale Saponine, die sich im Gegensatz zu anderen, die der Gruppe der Triterpenoide angehören, vom Steroidgerüst ableiten. Für die Aglykone sind zwei spiranartig verknüpfte Sauerstoff-Ringe charakteristisch. Pharmakologisch interessant ist die stark hämolytische Wirkung der Glykoside (4/5/8).

Die dritte Gruppe der Digitalis-Glykoside wurde erst relativ spät entdeckt, weil diese Verbindungen nur in geringen Mengen in der Pflanze vorkommen, und weil sie, soweit bisher bekannt, keine pharmakologische Wirksamkeit aufweisen. Die bisher aufgefundenen Vertreter enthalten sämtlich Aglykone mit 21 Kohlenstoff-Atomen und leiten sich, soweit aufgeklärt, ebenfalls vom Steroidgerüst ab.

Da Digipurpurin hier einzuordnen ist, soll auf die Digitanol-Glykoside und deren Aglykone kurz näher eingegangen werden:

Als erster und für lange Zeit einziger Vertreter einer neuen Klasse von Digitalis-Glykosiden wurde 1936 das Diginin von W. KARRER (9) aus Digitalis purpurea isoliert.

Erst fast zwanzig Jahre später wurden weitere Digitanol-glykoside aufgefunden, nachdem die inzwischen eingeführte Papierchromatographie auch auf die Digitalis-Stoffe Anwendung gefunden hatte. So wurde dieses Gebiet seit 1953 in Hamburg von TSCHESCHE und Mitarbeitern sowie nahezu gleichzeitig und unabhängig davon von einem japanischen Arbeitskreis um SATOH (1o/11/12/13/14/15) bearbeitet.

Außer Digitalis purpurea liefern auch andere Digitalis-Arten herzunwirksame Glykoside, die vermutlich alle zu den Digitanol-Verbindungen zu rechnen sind. Sie wurden aus Blättern und zum Teil auch aus Samen der Varietäten lanata, ambigua, ferruginea, mariana und thapsi isoliert (16/17). Auch sind freie Genine gefunden worden, deren native Glykoside bisher unbekannt geblieben sind(18).

Bisher wurden mindestens z e h n verschiedene Digitanol-Glykoside isoliert, denen acht Aglykone zugehören (einige Glykoside enthalten das gleiche Genin). Diese Aglykone lassen sich, soweit sie näher untersucht worden sind, in mehrere Klassen unterteilen:

Die von SATOH und Mitarbeitern aufgeklärten Verbindungen Digiprogenin, Purpnigenin und Purprogenin sowie das in Hamburg bearbeitete Digipurpurin (1/19/2o/21) besitzen Δ^5-Pregnen-3ß-ol-on-2o-Struktur.

Diginigenin und Digifolein enthalten einen zusätzlichen Äther-Ring, wie aus den Arbeiten von REICHSTEIN, SHOPPEE und PRESS (22/23/24/25) sowie von TSCHESCHE, GRIMMER, BUSCHAUER, LIPP und MÜLLER (1/3/26/27/28) hervorgeht.

Desacetyl-digacetigenin, das Aglykon des Digacetinins, trägt statt der sonst üblichen Keto-Gruppe am C-Atom 2o eine Hydroxyl-Gruppe, wie TSCHESCHE und HAMMERSCHMIDT (29/3o) kürzlich zeigen konnten.

Wie bereits erwähnt, wurde Digipurpurin aus Digitalis purpurea isoliert. Es konnte von G. GRIMMER (1) durch Adsorptionschromatographie von Blätter-Extrakt gewonnen werden. Bei der Hydrolyse mit Säuren zerfiel das Glykosid mit der Summenformel $C_{39}H_{64}O_{14}$ in D-Digitoxose und ein Genin der Zusammensetzung $C_{21}H_{32}O_4$.

Unter bestimmten Bedingungen lagerte sich Digipurpurin in eine isomere Verbindung um die mit einem anderen Digitanol-Glykosid identisch zu sein schien, das von SATOH zuerst isoliert und von ihm Purpnin benannt worden war(26).

Als GRIMMER für die Konstitutionsermittlung des Aglykons größere Mengen davon durch Säure-spaltung des Blattextraktes und anschließende Säulenchromatographie darstellte, fand er ein Genin mit anderen Eigenschaften als beim ersten Mal. Weil Reduktionsversuche mit dem Glykosid und dem zweiten Genin keine Fortschritte brachten, oxydierte er dieses nach OPPENAUER und fand dabei zwei Hauptprodukte. Mit einem dieser Oxydationsprodukte wurde eine Wasserabspaltung versucht, um auf diese Weise in die Reihe der Oxy-progesterone zu gelangen (19).

Später wurden diese Versuche von H.MACHLEIDT zum Teil wiederholt bzw. erweitert. So kombinierte dieser bei Isolierung größerer Mengen Digipurpurins die Adsorptionschromatographie mit einer Verteilungschromatographie. Bei der Chromatographie der Spaltansätze von Roh-Digipurpurin wurden beide Genine aufgefunden. Die Oxydation der beiden Aglykone mit WILLAMI-Lösung führte ebenfalls zu zwei Hauptprodukten, von denen aber nur eins mit einem Oxydationsprodukt von GRIMMER identisch war (2o).

Für die hier vorliegende Arbeit stellten sich die Aufgaben: Isolierung einer größeren Menge Ausgangsmaterials und Untersuchungen über die Konstitution des Digipurpurogenins.

II. Allgemeiner Teil

1. Isolierung des Ausgangsmaterials

a) Allgemeines:
Für die Durchführung der ersten Aufgabe, größere Mengen an Ausgangsmaterial zu gewinnen, boten sich auf Grund der Erfahrungen der Vorgänger (1/19/2o)2Wege an. Wie in der Einleitung bereits aufgezeigt, unterscheiden sie sich durch die Reihenfolge von Spaltung und Trennung:

1. Weg über das reine Glykosid
2. der der Spaltung von Roh-Digipurpurin.

Obwohl aus den Arbeiten von GRIMMER (19) her bekannt war, daß der zweite Weg leichter und schneller zum Ziele führt, sollte zunächst noch einmal das Glykosid in möglichst großer Menge isoliert werden, um dann daraus durch Säurespaltung das Aglykon darzustellen. Vor allem sollte versucht werden, durch geeignete Wahl der Spaltbedingungen das "wahre" Digipurpurogenin zu fassen. Das zuerst aufgefundene Aglykon des Digipurpurins wurde von TSCHESCHE und GRIMMER als Anhydro-digipurpurogenin bezeichnet. Dem "wahren"Aglykon des Digipurpurins müßte im Hinblick auf die Glykosidformel $C_{39}H_{64}O_{14}$ die Zusammensetzung $C_{21}H_{34}O_5$, bei Berücksichtigung dreier Mole D-Digitoxose $C_6H_{12}O_4$, zukommen (1).

Ferner war beabsichtigt, einen Teil des isolierten Glykosids der Genin-Spaltung vorzuenthalten, um weitere Reaktionen am Digipurpurin zu studieren. So hatte GRIMMER, wie bereits in der Einleitung auf der vorigen Seite erwähnt, Digipurpurin und dessen Aglykon (mit $NaBH_4$ in 8o%-igem Dioxan) reduziert. Bei beiden Reaktionen waren mehrere Reduktionsprodukte entstanden; aber in keinem Falle waren Hydrolysenprodukte der reduzierten Glykoside mit reduzierten Aglykonen identisch.

b) Digipurpurin:
Wie bereits erwähnt, hatte G. GRIMMER (1) dieses Digitanol-Glykosid durch mehrmalige Adsorptionschromatographie (31) von Verodigen, einem Handelspräparat (der Firma C.F. BOEHRINGER und Söhne, Mannheim-Waldhof) aus Blättern von Digitalis purpurea, an Aluminiumoxid unter Verwendung von Benzol/Chloroform/Methanol erhalten.

Die schlechte Ausbeute hatte H. MACHLEIDT (2o) später durch Anwendung der Verteilungschromatographie (31) zu verbessern versucht. Dabei wurde mit Formamid imprägniertes Cellulose-Pulver (als stationäre) und mit Formamid gesättigtes Benzol/Butanon-Gemisch(1:1) als mobile Phase verwendet.

Bei der Isolierung anderer Digitanol-Glykoside hatte G. MÜLLER (28) die Methode entwickelt, den größten Teil der Hauptglykoside Digitoxin und Gitoxin durch Behandlung des Ausgangsmaterials Verodigen mit Essigester v o r der Chromatographie abzutrennen.

Bei der Aufarbeitung größerer Mengen Verodigen, das auch hier als Ausgangsdroge diente, wurde daher folgendermaßen verfahren:

1. Behandlung der Droge mit Essigester; dabei fielen ca. 3o% der Gesamtmenge aus.
2. Rohchromatographie der löslichen Anteile an ungesiebtem Aluminiumoxid (4o-facher Überschuß)
3. Verteilungschromatographie unter Verwendung von mit Formamid imprägniertem Celite und mit Formamid gesättigtem Benzol/Chloroform.
4. Adsorptionschromatographie an gesiebtem Al_2O_3 (1oo-facher Überschuß), um Formamid-Reste und Spuren von Begleitern zu entfernen.

c) Digipurpurogenin I:

Der zuerst eingeschlagene Weg, über reines Digipurpurin zu größeren Mengen Aglykon zu gelangen, erwies sich trotz Anwendung der Verteilungschromatographie als zu zeitraubend und verlustreich. Daher wurde der Plan aufgegeben, das gesamte zur Verfügung stehende Verodigen auf Digipurpurin aufzuarbeiten. Statt dessen sollte aus dem inzwischen gewonnenen Roh-Glykosid das Genin des Digipurpurins dargestellt werden.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, hatte G.GRIMMER(19) auch den rohen Blattextrakt Verodigen gespalten. Das nach Abtrennen der Zucker-Anteile verbliebene Genin-Gemisch konnte er durch mehrmalige Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxid so weit auftrennen, daß durch Umkristallisieren reines Genin erhalten wurde. Dieses unterschied sich allerdings von dem durch Spaltung von reinem Digipurpurin erhaltenen durch seinen Schmelzpunkt beträchtlich (siehe weiter unten).

Die eben skizzierte Methode lieferte in kürzerer Zeit eine wesentlich bessere Genin-Ausbeute als der Weg über reines Digipurpurin. Der Grund dafür ist in folgendem zu sehen: Die Droge Verodigen ist ein Gemisch vieler Stoffe mit sehr ähnlichem chromatographischen Verhalten, das bei der Trennung große Schwierigkeiten bereitet. Durch die Spaltung wird die Zahl der Verbindungen verringert, denn einigen Glykosiden liegen die gleichen Aglykone zugrunde. Die dann zu trennenden Genine unterscheiden sich in ihren Eigenschaften meist mehr als deren Glykoside. Ferner wird bei einer Trennung im Anschluß an die Spaltung auch der Teil der Genine erfaßt, der in der Droge bereits in freier Form vorgelegen hat.

Bei Anwendung dieser Methode war aber zu beachten, daß G. GRIMMER hierbei ein anderes Aglykon erhalten hatte als durch Spaltung von reinem Digipurpurin(19). H.NACHBIDT konnte b e i d e Genine aus Spaltansätzen von Roh-Digipurpurin isolieren und sprach die Vermutung aus, daß es

von den Spaltbedingungen abhinge, w e l c h e s Genin erhalten wird. Als er die reinen Genine in der gleichen Weise mit Säure behandelte, konnte er feststellen, daß sich aus dem niedriger schmelzenden dasjenige mit dem höheren Schmelzpunkt bildete, nicht aber umgekehrt. Das instabilere Aglykon erhielt die Bezeichnung Digipurpurogenin I, weil angenommen wird, daß es sich dabei um das n a t i v e Genin handelt, das unter relativ milden Spaltbedingungen entsteht, Das zuerst von GRIMMER isolierte Umwandlungsprodukt wurde Digipurpurogenin II benannt.

Das Bestreben war nun, aus dem vorhandenen Rohglykosid in guter Ausbeute Digipurpurogenin I darzustellen. Das ging nur bei Anwendung sehr milder Spaltbedingungen, wie aus dem Vorhergehenden hervorgeht. Verodigen konnte nicht eingesetzt werden, weil es als Ausgangsmaterial für die Untersuchung weiterer Inhaltstoffe von Digitalis purpurea diente. Diese ließen eine Spaltung unter den für Digipurpurin erforderlichen Bedingungen nicht zu (28).

Zuerst wurden noch einmal die Spaltbedingungen genau studiert, wobei relativ reines Digipurpurin eingesetzt werden konnte, das in geringer Menge durch Verteilungschromatographie erhalten worden war. Dabei zeigte sich, daß unter den Bedingungen, bei denen die Spaltung überhaupt vollständig ist, immer Sekundärprodukte neben Digipurpurogenin I entstehen. Deren Anteil steigt mit Verschärfung der Spaltbedingungen (in Bezug auf Dauer, Temperatur und Säurekonzentration) erheblich.

Nach diesen vorbereitenden Versuchen, über die im Experimentellen Teil näher berichtet wird, wurde fast die gesamte Menge Roh-Digipurpurin in mehreren Protionen gespalten, wobei die Bedingungen so gehalten wurden, daß die Glykosid-Spaltung möglichst vollständig war, die Bildung von Umwandlungsprodukten aber weitgehend vermieden wurde.

Das durch Spaltung und Säulenchromatographie (an Al_2O_3) erhaltene Aglykon war zwar kristallisiert, aber nicht papierchromatographisch einheitlich. Vielmehr enthielt es deutlich Digipurpurogenin II und eine Spur Purpnigenin (Seite 6).

Die beiden Digipurpurogenine lassen sich papierchromatographisch nur bei Anwendung der Systeme I und II nach F.KAISER (32) unterscheiden. Die Papierchromatogramme zeigen nach Einsprühen mit Antimontrichlorid (33) im UV zwei benachbarte Flecke etwas unterschiedlicher Färbung: Dpng I wird orange-rot, Dpng II dagegen scharlach-rot gefärbt.

Durch wiederholtes Umkristallisieren aus verschiedenen Lösungsmitteln gelang es schließlich, papierchromatographisch reines Digipurpurogenin I zu erhalten. Allerdings mußte auf Grund der Analysen-Ergebnisse und des Verhaltens beim Erhitzen (zur Bestimmung des Schmelzpunktes) bezweifelt werden, daß es sich bei der auf diese Weise erhaltenen Substanz um chemisch reines Digipurpurogenin I der Zusammensetzung $C_{21}H_{32}O_4$ handelte. In dieser Hinsicht wurden frühere Befunde von G.GRIMMER (19) bestätigt, der bereits festgestellt hatte, daß das niedriger schmelzende Digipurpurogenin (also Dpng I) beim Erhitzen weit unterhalb des eigentlichen Schmelzpunktes "gaste". Diese Erscheinung wurde nun unter Verwendung von Kristallisaten aus Aceton/Äther, Essigester/Äther und Methanol/Wasser erneut studiert. Die meisten Proben zeigten Zersetzung ohne Dunkelfärbung bei 1o5 - 11o°C; zurück blieben Kristalltrümmer, die dann bei 17o-175°C schmolzen.

Dieses Verhalten ist typisch für Additions-Verbindungen. Dafür sprechen auch die Analysen-Ergebnisse: nach üblicher Vorbehandlung (Trocknen im Hochvakuum bei 8o°C bis zur Gewichtskonstanz) stimmten sie keineswegs auf die Bruttoformel $C_{21}H_{32}O_4$. Erst als GRIMMER dieselbe Probe zweimal analysieren ließ, konnten für das Aceton-Kristallisat

Analysenwerte erhalten werden, die sich mit $C_{21}H_{32}O_4$, C_3H_6O (Aceton) bzw. $C_{21}H_{32}O_4$ vereinbaren ließen. Im ersten Falle war bei Zimmertemperatur, im anderen bei 105°C getrocknet worden; dabei war das Aceton abgespalten worden.

Additions-Verbindungen lassen sich durch tensimetrische Abbau-Versuche untersuchen (34). Die Voraussetzung für ein genaues Analysenergebnis ist doch, daß die betreffende Substanz in reiner Form als definierte Verbindung vorliegt und nicht als Gemisch mit zusätzlichen Lösungsmitteln oder mit eigenen Zersetzungsprodukten. Dies läßt sich an den treppenstufen-förmigen Abbaukurven feststellen, die bei einem isothermen bzw. isobaren Abbau erhalten werden. So erstrebenswert solche tensimetrischen Untersuchungen als Ergänzung papierchromatographischer Methoden sind, um die Voraussetzung für exakte Analysenwerte zu liefern, so viel apparativen und zeitlichen Aufwand erfordern sie auch (34).

In diesem Zusammenhang wurde darauf verzichtet, um so mehr als die Zusammensetzung des Digipurpurogenins I noch einmal auf einem anderen Weg bestätigt werden konnte, so daß an der Bruttoformel $C_{21}H_{32}O_4$ kein Zweifel mehr besteht. Es konnte nämlich ein Acetat dargestellt werden, dessen Analysenwerte auf das Diacetat eines Genins obiger Zusammensetzung ausgezeichnet paßte.

Im IR-Spektrum zeigte Digipurpurogenin I die Banden von Hydroxylgruppen sowie einer Keto-Gruppe. Die Reaktionen nach WITTER und STONE (35) sowie mit Tetranitromethan(36) auf Doppelbindungen verliefen positiv, diejenigen nach KEDDE (37) und mit TTC (38) fielen dagegen nur schwach aus. Völlig negativ war die Probe nach VISCONTINI (39): Digipurpurogenin I enthält demnach keine 1,2-Diol-Gruppierung.

2. Isomerisierungs-Reaktionen

a) Allgemeines:

Wie bereits erwähnt, führt die Spaltung von Digipurpurin auch immer zu Verbindungen, die durch Umwandlung des primär entstandenen Digipurpurogenins I gebildet werden. Von diesen Sekundärprodukten konnten zwei mit diesem verknüpft werden; sie erweisen sich als Isomere des nativen Aglykons von Digipurpurin. Daher sollen die Reaktionen, die zu diesen beiden Verbindungen führen, an dieser Stelle unter dem gemeinsamen Gesichtspunkt einer "Isomerisierung" besprochen werden.

Bei s a u r e r Isomerisierung unter Hydrolysenbedingungen entsteht vorwiegend Digipurpurogenin II, wie H. MACHLEIDT zuerst zeigen konnte (2o). Daneben werden aber auch andere Umwandlungsprodukte gebildet. Eine dieser Verbindungen, das sog. Iso-Digipurpurogenin, entsteht unter a l k a l i s c h e n Bedingungen (Seite 16) in ausgezeichneter Ausbeute.

Auf andere Sekundärprodukte, die im Gemisch I wesentlich größere Rf-Werte als Dpng I, DpngII und Iso-Dpng aufweisen, wird im Experimentellen Teil näher eingegangen. Eine dieser Verbindungen ist vermutlich das sog. Iso-Digipurpurogenin-ketal, das auf Seite 18 f. beschrieben wird.

Digipurpurogenin II und Purpnigenin (Seite 6) lassen sich a l k a l i s c h nicht isomerisieren; selbst tagelanges Stehen mit verdünntem Alkali führte bei diesen beiden Verbindungen nur zu Spuren kurzlaufender Substanzen, während Digipurpurogenin I bereits über Nacht fast vollständig umgelagert wird. Im Falle des Purpnigenins scheint das in Spuren auftretende Umwandlungsprodukt dem Rf-Wert zufolge mit einer Substanz identisch zu sein, die sich ebenfalls in Spuren bei saurer Isomierisierung von stark Purpnigenin-haltigen Dpng (I)-Mutterlaugen bildet.

b) Digipurpurogenin II:

Diese Verbindung wurde präparativ aus Dpng(I)-Mutterlaugen gewonnen, in denen sie von der Glykosid-Spaltung her bereits angereichert vorlag. Die Mutterlaugen wurden erneut hydrolysiert, indem sie verschärften Spaltbedingungen in Bezug auf Dauer und Temperatur unterworfen wurden. Die genauen Isomerisierungs-Bedingungen wurden an reinem Digipurpurogenin I studiert. Dabei wurde darauf geachtet, daß Dpng I möglichst quantitativ Dpng II bildete, das Auftreten anderer Sekundärprodukte aber weitgehend unterbunden wurde; ganz ließ sich dies aber nicht vermeiden.

Im Gegensatz zum Genin I kristallisiert Digipurpurogenin II lösungsmittelfrei. Die bereits von GRIMMER ermittelte Zusammensetzung $C_{21}H_{32}O_4$ konnte durch die Analyse des Dpng(II)-Acetats bestätigt werden.

Die restlose Abtrennung des isomeren Purpnigenins bereitete Schwierigkeiten und war sehr verlustreich, da sie nur durch häufiges Umkristallisieren erreicht werden konnte.

Genau wie Digipurpurogenin I enthält dessen Umwandlungsprodukt (Dpng II) eine Ketogruppe sowie Hydroxyl-Gruppen. Der Lage der CO-Bande in den IR-Spektren von Dpng I und Dpng II ist zu entnehmen, daß es sich um Verbindungen handelt, deren Ketogruppe in einem Sechsring oder in der Seitenkette liegt. Weisen die Spektren der beiden Digipurpurogenine kaum Unterschiede auf, so verlaufen die Farbreaktionen ebenfalls annähernd gleich. Lediglich graduelle Unterschiede sind beim Ausfall der Reaktionen nach WITTER und STONE, KEDDE und mit TTC festzustellen. Nach Befunden von H. MACHLEIDT enthalten beide Genine eine Δ^5-3-ol - Gruppierung, wie aus dem Verhalten bei Oxydationsversuchen geschlossen werden kann (2o).

c) Iso-Digipurpurogenin:

Bei schwach alkalischer Behandlung von Digipurpurogenin I, also unter den von D.SATOH (14) bei der Isomerisierung von Digipronin bzw. Digiprogenin angewandten Bedingungen, entsteht Iso-Digipurpurogenin. Die Reaktion ist im Falle des Digipurpurogenins I durch sehr gute Ausbeute ausgezeichnet; die Umsetzung fällt völlig aus dem Rahmen der üblichen Reaktionen dieser Stoffklasse heraus, die nie so eindeutig unter Bildung nur eines einzigen Reaktionsproduktes verlaufen.

Die I s o l i e r u n g des Iso-Digipurpurogenins bereitete wegen der noch zu besprechenden "Ketalisierungs"-Neigung dieser Verbindung ungewöhnliche Schwierigkeiten. Zunächst wurde die Umsetzung im 1o mg-Maßstab studiert. Als eine Isolierung dabei nicht gelang, wurde die zehnfache Menge Digipurpurogenin I eingesetzt. Aber auch bei dem Ansatz schlugen alle Kristallisationsversuche fehl. Daher wurde versucht, durch Adsorptionschromatographie zum Ziel zu kommen. Beim Eluieren wurde festgestellt, daß sich ein Teil des Isogenins in eine Verbindung mit wesentlich größerem Rf-Wert umgewandelt hatte.

Die Vermutung, daß es sich um ein Wasserabspaltungsprodukt von Iso-Digipurpurogenin handeln könne, hat sich nicht bestätigt. Das hätte darauf schließen lassen, daß das Isogenin eine wesentlich leichter abspaltbare tertiäre Hydroxyl-Gruppe enthielte als Digipurpurogenin I; analoge Versuche mit diesem ergaben jedenfalls keine Bildung einer Verbindung mit hohem Rf-Wert. Bei Oxydationsprodukten war es ebenfalls zu Umlagerungen auf der Säule gekommen; allerdings hatten die entstehenden Verbindungen kleinere Rf-Werte als die Ausgansprodukte (Seite 25).

Da eine möglichst schonende und in guter Ausbeute verlaufende Wasserabspaltungs-Reaktion als nächster Schritt auf dem Wege zur Konstitutionsermittlung des Digipurpurogenins gesucht wurde (Seite 7), sollte die sich hier scheinbar bie-

tende Möglichkeit näher untersucht werden. Schon beim nächsten Ansatz stellte sich heraus, daß sich die im Papierchromatogramm weitlaufende Verbindung auch o h n e Chromatographie an der Säule bildet, nämlich bereits beim Stehen des Rohprodukts in einer Lösung von Chloroform und Methanol. Die Säule schien die Bildung zwar zu begünstigen, später wurde aber gefunden, daß die Rückspaltung des Umwandlungsproduktes ebenfalls gefördert wurde. Es war unmöglich, Isogenin und dessen Umwandlungsprodukt durch Säulenchromatographie an Al_2O_3 völlig zu trennen (vgl. Seite 19).

War auf diesem Wege eine Isolierung des Iso-Digipurpurogenins unmöglich, so boten sich andere an, z.B. die Verwendung eines anderen Adsorbens bzw. Durchführung einer Verteilungschromatographie. Es konnte aber auch versucht werden, die Umsatzung möglichst quantitativ zu gestalten, um doch noch durch Umkristallisieren zum Ziele zu gelangen. Als bei einem 500 mg-Ansatz die Isolierung wieder fehlgeschlagen war, wurde das Rohprodukt erneut alkalisch behandelt. Im Papierchromatogramm des Ansatzes war kaum noch Ausgangsprodukt festzustellen. Bei der üblichen Aufarbeitung fiel dann die Hauptmenge des Isogenins kristallin aus.

Das auf diese Weise aus Chloroform isolierte Iso-Digipurpurogenin bildet mit diesem die Additionsverbindung $C_{21}H_{32}O_4 + CHCl_3$, wie aus dem Trockenverlust und dem Verhalten beim Erhitzen zur Schmelzpunktbestimmung hervorgeht. Analog Digipurpurogenin I "gaste" die Substanz weit unterhalb des Schmelzpunktes; beim üblichen Trocknen vor der Analyse ließ sich das addierte Chloroform restlos abspalten. Iso-Digipurpurogenin ließ sich aber auch lösungsmittelfrei erhalten. Die Analyse der getrockneten Verbindung stimmte auf die Bruttoformel $C_{21}H_{32}O_4$.

Als wesentlicher Unterschied gegenüber den bereits besprochenen Digipurpurogeninen (I und II) ist das Fehlen jeglicher Keto-Bande im IR-Spektrum des Isogenins festzustellen. Die Farbreaktionen fielen wie bei Dpng II aus.

d) Iso-Digipurpurogenin-ketal:

Als nach Isolierung des Iso-Digipurpurogenins festgestellt worden war, daß diese Verbindung k e i n e Keto-Gruppe enthält, wurde dies mit einer Halbketal-Formulierung erklärt (Siehe Kapitel 6,Konstitutionstrachtungen). Diese Annahme ließ die bereits beschriebenen Umwandlungs-Erscheinungen unter einem anderen Aspekt erscheinen: für das Halbketal Iso-Digipurpurogenin ist die Bildung eines Voll-ketals gegeben, das sich gegenüber jenem durch einen wesentlich größeren Rf-Wert auszeichnen würde.

Die bei der Halbketal-Bildung neu entstehende Hydroxyl-Gruppe übt einen starken Einfluß auf die Lösungseigenschaften aus; daher läuft das Isogenin bedeutend kürzer als die beiden Digipurpurogenine (I und II), die sich papierchromatographisch kaum voneinander unterscheiden. Bei Bildung des Voll-ketals wird dieser Einfluß der OH-Gruppe an C-2o ausgeschaltet; das Iso-Dpng-ketal läuft wesentlich weiter als Iso-Dpng, Dpng I und Dpng II.

Um diese Annahme zu stützen, wurde die B i l d u n g der papierchromatographisch weitlaufenden Verbindung näher untersucht. Wie im Experimentellen Teil weiter ausgeführt, wurde dabei festgestellt, daß bei der Umwandlung von Isogenin stets H-Ionen und Methanol zugegen sein müssen. Optimale Ketalisierung wurde in Gemischen von Methanol und Chloroform, die schon eine Zeit lang gestanden hatten, erzielt. Hierbei war unter partieller Zersetzung neben Phosgen auch Chlorwasserstoff entstanden. Mit frisch destilliertem $CHCl_3$ und CH_3OH ließ sich Iso-Digipurpurogenin n i c h t umwandeln.
In methanolisch-wäßrigen Säuren wurde Iso-Digipurpurogenin ebenfalls ketalisiert, jedoch mit wesentlich schlechterer Ausbeute. Das Voll-ketal ließ sich durch Kochen mit wäßrigem Dioxan sauer s p a l t e n ; dabei bildete sich das Isogenin quantitativ zurück.

Die I s o l i e r u n g des Iso-Digipurpurogenin-ketals war ebenfalls schwierig und gelang auch nur einmal. Zunächst war versucht worden, durch Aluminiumoxidchromatographie "alter" Isogenin-Ansätze eine Trennung des durch Stehen in $CHCl_3/DH_3OH$ inzwischen gebildeten Ketals von restlichem Iso-Digipurpurogenin zu erzielen. Wie auf Seite 17 bereits ausgeführt, gelang dies zwar nicht, wohl aber die Trennung des Isogenin-Ketals von nicht umgesetztem Digipurpurogenin I und der Hauptmenge Iso-Digipurpurogenin. Da Versuche, das restliche Iso-Dpng durch Umkristallisieren zu entfernen, scheiterten, wurde an Aluminiumoxid rechromatographiert. Das brachte aber praktisch keinen Fortschritt mehr; der Anteil an Iso-Digipurpurogenin schien sogar größer geworden zu sein, was einen Hinweis auf Reversibilität der Umwandlung gab. Eine Anreicherung der beiden Komponenten gelang aber; aus der Isogenin-reichen Sammelfraktion konnte dieses durch Umkristallisieren fast vollständig entfernt werden. Die Mutterlauge wurde mit der anderen Sammelfraktion vereint und erneut ketalisiert. Erst dann konnte Iso-Digipurpurogenin-ketal durch Umkristallisieren erhalten werden, allerdings erst als 2. Kristall-fraktion. Als erste kristallisierte nochmals Iso-Digipurpurogenin aus.

Das Ketal des Iso-Digipurpurogenins weist genau wie dieses k e i n e Carbonyl-frequenz im IR-Spektrum auf. Durch die passenden Analysenwerte beim Iso-Digipurpurogenin-Acetat-ketal (Seite 67) konnte gestützt werden, daß es sich hier um ein Methyl-ketal handelt. Die Farbreaktionen verliefen wie beim Iso-Digipurpurogenin.

Iso-Dpng-ketal ließ sich acetylieren und bildete dabei Iso-Dpng-Acetat-ketal, wie papierchromatographisch nachgewiesen werden konnte (Näheres im Experimentellen Teil).

3. Oxydations-Versuche

a) Allgemeines:

Im Gegensatz zu Reduktionsversuchen, über die auf Seite 8 schon kurz berichtet wurde, führte die Oxydation von Digipurpurogenin (I und II) auf dem Wege einer Konstitutionsermittlung weiter. Der Leitgedanke war dabei, durch Oxydation der 3ß-Hydroxylgruppe in die Progesteron-Reihe zu gelangen.

In der L i t e r a t u r findet man viele Vorschriften für die Oxydation von Steroid-Alkoholen zu den entsprechenden Ketonen. Die genauen Versuchsbedingungen richten sich nach den weiter vorhandenen funktionellen Gruppen im Molekül sowie danach, ob - im Falle ungesättigter Verbindungen - konjugierte oder unkonjugierte Ketone gewünscht werden.

Ist eine Doppelbindung in der Nähe der zu oxydierenden Hydroxyl-Gruppe vorhanden, so schützt das "klassische" Verfahren diese durch Bromierung (4). Dann wird mit CrO_3 primär zum 5,6-Dibrom-3-Keton oxydiert, das bei der sauren Entbromung in das konjugiert ungesättigte Δ^4-3-Keton umgelagert wird (4o/41).

Die OPPENAUER-Oxydation (42/43) liefert infolge der alkalischen Versuchsbedingungen gleich α,β-ungesättigtes Keton, primär entsteht aber gleichfalls das β,γ-ungesättigte Keton. Der Unterschied zwischen beiden ist besonders im Verhalten gegenüber UV-Licht von 24o mμ augenfällig: erstere Ketone zeigen eine charakteristische Absorption ($\log \varepsilon = 4,2$), die sich bei unangefärbten Papierchromatogrammen als sog. "Löschung" bemerkbar macht, d.h. die Stellen, die konjugiert ungesättigte Ketone enthalten, erscheinen beim Betrachten unter dem UV-Licht dunkel gefärbt.

Eine direkte Oxydation von Δ^5-3ß-Hydroxy-Steroiden zu den entsprechenden Δ^5-3-Ketonen ist nach JONES und Mitarbeitern (44) auch o h n e Schutz der Doppelbindung möglich (45). Diese Methode läßt wäßrige schwefelsaure Chromtrioxyd-Lösung sehr kurze Zeit auf eine sehr verdünnte Steroid-Lösung in Aceton einwirken. Längere Oxydationsdauer mit KILIANI-Lösung sowie Oxydation mit CrO_3 in Eisessig führt nach T. REICHSTEIN (46) zum Δ^4-3,6-Dion.

Konjugiert ungesättigte Ketone lassen sich durch kurze Behandlung der Rohprodukte mit heißer verdünnter Kalilauge (in Methanol) erhalten (47). Diese Isomerisierung wird auch durch Mineralsäuren katalysiert, wie bereits auf der vorigen Seite erwähnt. Besonders schonend ist aber nach L.F.FIESER (48) die Behandlung der isolierten Δ^5-3-Ketone mit Oxalsäure in äthanolischer Lösung. REICHSTEIN lagerte auch an Aluminiumoxid um (46), was aber leicht zu unbeabsichtigten anderen Isomerisierungserscheinungen führen kann; darüber wird auf Seite 25 berichtet.

Außer mit CrO_3 kann auch mit Chromaten oxydiert werden (49/5o), allerdings nur in s a u r e r Lösung. Bei säureempfindlichen Gruppen im Molekül empfiehlt SARETT den Gebrauch von Pyridin und t-Butanol als Lösungsmittel (51). Komplexe von CrO_3 mit tertiären Aminen addieren sich an sekundären OH-Gruppen unter Bildung von Chromsäure-Estern, die dann Ketone bilden (52). Von vielen in der Literatur beschriebenen CrO_3-Komplexen (53) haben POOS und Mitarbeiter (54) die Verwendung des P y r i d i n - Komplexes eingeführt, um empfindliche Steroid-Alkohole selektiv zu oxydieren (55). Wie TSCHESCHE und HAMMERSCHMIDT zeigen konnten, wird beim Desacetyl-digacetigenin (Seite 6) die OH-Gruppe an C-2o oxydiert, ohne daß dabei die Δ^5-3ß-OH-Gruppe angegriffen wird (3o).

Will man die Verwendung von Chrom-Verbindungen vermeiden, kann man α,ß-ungesättigte Alkohole außer nach OPPENAUER auch mit MnO_2 in Petroläther oxydieren, wie S.BALL (56)

beim Allylalkohol zeigen konnte (siehe auch (57). Ferner können N-Brom-acetamid (58) und N-Brom-succinimid (59) verwendet werden. Die Oxydationsreaktionen verlaufen dabei in Gegenwart von Wasser; die Bildung bromierter Ketone wird durch $CaCO_3$ oder Pyridinzusatz vermieden (59).

b) OPPENAUER-Oxydation von Digipurpurogenin I:

G. GRIMMER (19) oxydierte Dpng I mit Cyclohexanon und Al-isopropylat und fand z w e i Reaktionsprodukte, die im UV-Licht von 254 mμ "Löschung" zeigten (Seite 2o). Durch mehrfache Säulenchromatographie an Al_2O_3 und anschließende Kristallisation konnten von ihm beide Verbindungen isoliert werden. Das Hauptprodukt wurde von GRIMMER als Triketon bezeichnet, weil er annahm, daß in ihm alle sekundären Hydroxyl-Gruppen oxydiert seien (Digipurpurogenin I selbst ist bereits ein Monoketon). Das Nebenprodukt mit kürzerem Rf-Wert stellt nach GRIMMER ein Diketon dar, in dem nur die 3ß-OH-Gruppe des Genins I zur Ketogruppe oxydiert worden ist.

c) Oxydation von Dpng I und Dpng II mit KILIANI-Lösung:

H.MACHLEIDT (2o) fand bei diesem Verfahren ebenfalls z w e i Oxydationsprodukte, von denen eines mit dem GRIMMERschen Triketon, das auch als Digipurpurogenon bezeichnet wird, identisch war. Die beiden Nebenprodukte der Oxydation von Dpng I u n d Dpng II waren untereinander ebenfalls identisch, nicht aber mit dem Nebenprodukt von GRIMMER (19). Allerdings arbeitete MACHLEIDT - wegen anderer Reaktionsbedingungen (Seite 2o) - seine Rohprodukte anders auf. Die Primärprodukte zeigten k e i n e Löschung und waren offenbar Δ^5-3-Ketone, deren Isolierung aber nicht gelang. Daher wurden die Rohprodukte durch mehrtägiges Stehen auf Al_2O_3-Säulen isomerisiert und anschließend noch mehrmals an Al_2O_3 chromatographiert.

MACHLEIDT konnte dann die Hauptprodukte isolieren, die nunmehr die für α,ß-ungesättigte Ketone charakteristische UV-Absorption aufwiesen.

d) Eigene Versuche:

Die Aufgabe bestand darin, durch Oxydation von Dpng I größere Mengen Digipurpurogenon zur weiteren Konstitutionsermittlung darzustellen. Bei Oxydation mit Cyclohexanon und Al-isopropylat wurden nicht nur die beiden GRIMMERschen Ketone sondern auch das 2. Oxydationsprodukt von MACHLEIDT aufgefunden. Die beiden Neben-Ketone konnten miteinander verknüpft und ihr Auftreten bei Oxydation desselben Genins nach zwei verschiedenen Methoden geklärt werden. Ferner wurde ein weiteres unter dem UV-Licht von 254 mμ nicht-löschendes Nebenprodukt aufgefunden und papierchromatographisch beschrieben. Isoliert wurde allerdings nur das für eine Verknüpfung benötigte Triketon.

Anfangs wurden 2oo mg Digipurpurogenin I nach OPPENAUER oxydiert. Das Rohprodukt zeigte im unangefärbten Papierchromatogramm zwei löschende Substanzen, die mit den beiden Ketonen von GRIMMER identisch waren. Bei der weiteren Auswertung wurden die Papierchromatogramme mit wäßriger Natronlauge angefärbt (6o); dann zeigten die Ketone im UV-Licht (von 366 mμ) starke gelbe Fluoreszens, während das Ausgangsprodukt sich nicht anfärben ließ. Umgekehrt ließen sich die löschenden Verbindungen nicht mit $SbCl_3$ anfärben. Schon im Rohprodukt fiel eine Substanz im Papierchromatogramm auf, die sich in Bezug auf die Anfärbbarkeit wie Digipurpurogenin I verhielt, sich aber von diesem durch wesentlich größeren Rf-Wert unterschied. Auf diese "weitlaufende" Verbindung wird auf Seite 25 noch näher eingegangen werden.

Durch Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxyd konnte Digipurpurogenon erhalten werden. Die Analysenergebnisse stimmten auf die Bruttoformel $C_{21}H_{28}O_4$. Im IR-Spektrum war wie bei Digipurpurogenin (I)-Acetat auch in $CHCl_3$ noch eine Hydroxylbande festzustellen; diese tertiäre OH-Gruppe läßt sich mit Thionylchlorid und Pyridin abspalten (Siehe weiter unten).

Bei Einsatz g r ö ß e r e r Mengen Digipurpurogenin I verlief die OPPENAUER-Oxydation nicht so günstig in Bezug auf die Ausbeute an Digipurpurogenon. Einmal schien dies an der Umsetzung selbst gelegen zu haben, denn neben relativ viel Diketon war der Anteil des nicht umgesetzten Ausgangsgenins wesentlich höher als beim ersten Ansatz. Ferner schien es bei der Aufarbeitung durch längere und häufigere Chromatographien zu Umlagerungen gekommen zu sein.

Bei dieser Gelegenheit wurde das Diketon von MACHLEIDT wieder entdeckt, das sich aus demjenigen von GRIMMER gebildet zu haben schien. Im Rohprodukt war es papierchromatographisch nicht festzustellen gewesen; nach zweimaligem längeren Chromatographieren an Aluminiumoxid trat es in solcher Menge auf, daß es bei ursprünglicher Anwesenheit nicht hätte übersehen werden können.

Der Verdacht einer Umwandlung des einen Diketons in das andere konnte durch Versuche mit reinem GRIMMER-Diketon bestätigt werden: an einer Al_2O_3-Säule wandelte sich dieses bereits beim Stehen über Nacht in Chloroformlösung in beträchtlichem Maße in das MACHLEIDT-"Diketon" um, wie papierchromatographische Vergleiche der reinen Substanzen zeigten. Unter gleichen Bedingungen veränderte sich das Triketon - selbst durch mehrtägiges Stehen auf der Säule - nicht; ebenso zeigte das MACHLEIDT-"Diketon" keine weitere Veränderung mehr an Aluminiumoxid und Chloroform.

Um solche Umwandlungen zu vermeiden, müßte an einem anderen Adsorbens (z.B. Kieselgel) chromatographiert werden, oder man verwendet eine Verteilungschromatographie. An Kieselgel ist der Trenneffekt aber erfahrungsgemäß viel geringer als an Al_2O_3. Die bei dieser Stoffklasse empfehlenswert erscheinende Verwendung von Formamid bei einer Verteilungschromatographie hätte sicherlich gleichfalls Umwandlungen zur Folge; in diesem Zusammenhange sei nur an die Isomerisierung von Digipurpurin zu Purpnin erinnert (Seite 7). Daher und weil in erster Linie Digipurpurogenon als Vorstufe für Wasserabspaltungs-Versuche interessierte, wurde auf erneute Isolierung der beiden Diketone verzichtet.

Wie bereits erwähnt, wurde eine weitere Verbindung papierchromatographisch charakterisiert, die sich im Gegensatz zu den eben besprochenen Ketonen nicht mit Lauge, wohl aber mit $SbCl_3$ anfärben ließ, und die keine Löschung im UV-Licht (von 254 mμ) zeigte. Diese Substanz trat bereits im OPPENAUER-Rohprodukt auf und erlitt auch keine Veränderung beim Chromatographieren an Aluminiumoxid. Sie muß sich also bereits bei der Umsetzung gebildet haben und relativ stabil sein. Es könnte sich ebenfalls um ein D i k e t o n handeln, bei dem aber im Gegensatz zu den löschenden die andere Hydroxyl-Gruppe oxydiert ist. Dadurch ist die Möglichkeit einer Halbketalring-Bildung, die als Erklärung der Umwandlung des GRIMMER-Dions im Einklang mit der Bildung von Iso-Digipurpurogenin herangezogen wird, ausgeschaltet (Näheres im Kapitel über Konstitutionsbetrachtungen).

4. Acetylierungs-Reaktionen

a) Allgemeines:

Weil eine genaue Bestimmung der Bruttoformel des Digipurpurogenins I durch Analyse Schwierigkeiten machte, sollte diese an Derivaten durchgeführt werden, die lösungsmittelfrei kristallisieren und die sich durch Umkristallisieren gut reinigen lassen. Bei solchen Verbindungen ist meist auch eine Bestimmung der Zahl funktioneller Gruppen möglich. Als Umsetzungen boten sich in diesem Zusammenhang einmal die Veresterung von Hydroxyl-Gruppen und zum anderen die Bildung N-haltiger Derivate der Keto-Gruppe an.

Solche Verbindungen, wie z.B. Oxime, Semicarbazone etc. bieten durch den Stickstoffgehalt eine weitere Kontrolle für eine Analyse. Dpng I und Dpng II ließen sich unter den üblichen Bedingungen (22/61) glatt o x i m i e r e n; eine Isolierung der gebildeten Oxime gelang aber weder durch Umkristallisieren noch durch Säulenchromatographie. Größere Mengen an Geninen wurden nicht eingesetzt, weil diese damit der weiteren Verwendung entzogen worden wären; eine präparative Spaltung solcher Derivate ist bekanntlich äußerst schwierig.

Die A c e t y l i e r u n g verlief ebenfalls glatt; außerdem ließen sich die Reaktionsprodukte in den meisten Fällen auch relativ einfach durch mehrfaches Umkristallisieren isolieren. Unter den üblichen Bedingungen ließen sich die Acetate von Digipurpurogenin I, Dpng II und Iso-Digipurpurogenin darstellen. Die Zahl der acetylierbaren Hydroxyl-Gruppen konnte durch Analysen bestimmt werden; diese Ergebnisse wurden durch Mikroacetyl-Bestimmungen bestätigt (62).

b) Digipurpurogenin (I) - Acetat:

Digipurpurogenin I wurde durch vielstündiges Stehenlassen mit Acetanhydrid/Pyridin bei Zimmertemperatur acetyliert. Nach der üblichen Aufarbeitung ließ sich das papierchromatographisch einheitliche Acetat durch Umkristallisieren isolieren.

Das Analysenergebnis stimmte auf die Bruttoformel $C_{25}H_{36}O_6$, was für das D i a c e t a t eines Genins der Zusammensetzung $C_{21}H_{32}O_4$ spricht (Seite 13). Die Mikroacetyl-Bestimmung +) ergab ebenfalls z w e i Acetyl-Gruppen. Das IR-Spektrum in Chloroform zeigte außer den für Acetate typischen Banden noch die Anwesenheit einer nicht acetylierbaren Hydroxyl-Gruppe an. Das gleiche war auch im IR-Spektrum von Digipurpurogenon festzustellen (Seite 24).

c) Digipurpurogenin(II)-Acetat:

Umsetzung und Aufarbeitung verliefen wie bei der Acetylierung von Digipurpurogenin I. Eine Isolierung gelang nur bei Einsatz sehr reinen Purpnigenin-freien Ausgangsprodukts, da schon Spuren an Purpnigenin-Acetat die Kristallisation zu stören schienen.

Das Analysenergebnis entsprach demjenigen von Dpng (I)-Acetat, die Mikroacetyl-Bestimmung ergab ebenfalls z w e i Acetyl-Gruppen. Das IR-Spektrum konnte wegen der geringen Löslichkeit von Digipurpurogenin II und seiner Derivate in Chloroform nur in KBr aufgenommen werden. Dies zeigte genau wie bei den Geninen kaum einen Unterschied gegenüber dem KBr-Spektrum des Dpng(I)-Acetats.

+) Herrn Priv-Doz. Dr. G. GRIMMER sei auch an dieser Stelle für die Durchführung der Mikroacatyl-Bestimmungen herzlich gedankt.

d) Iso-Digipurpurogenin-Acetat:

Nach der üblichen Umsetzung und Aufarbeitung zeigte sich im Papierchromatogramm des Rohprodukts außer einer Spur nicht umgesetzten Isogenins und dem Haupt-Reaktionsprodukt auch ein Nebenprodukt der Acetylierung, dem zunächst wenig Beachtung geschenkt wurde. Das Hauptprodukt mit wesentlich kleinerem Rf-Wert als die der beiden Acetate von Dpng I und Dpng II konnte durch Umkristallisieren isoliert werden.

Die Analysenergebnisse wichen zwar von den für die Bruttoformel $C_{23}H_{34}O_5$ geforderten Werten ab, durch Mikroacetyl-Bestimmung und durch die Analyse des Iso-Dpng-Acetat-ketals konnte aber gesichert werden, daß Iso-Digipurpurogenin ein Monoacetat bildet. Diese Verbindung zeigt die gleiche Ketalisierungstendenz wie Iso-Dpng (Siehe unten).

e) Iso-Digipurpurogenin-Acetat-ketal:

Die frische Mutterlauge des Iso-Dpng-Acetats zeigte im Papierchromatogramm keinen Unterschied gegenüber dem isolierten Acetat. Beim Stehen in $CHCl_3/CH_3OH$ bildete sich jedoch die "weitlaufende" Verbindung auf Kosten des relativ kurz laufenden Iso-Acetats, die im Rohprodukt bereits als Nebenprodukt vorhanden gewesen war (siehe oben). Diese Erscheinung wird mit einer Ketalisierung erklärt. Das Ketal des Iso-Dpng-Acetats hat einen Rf-Wert von der Größenordnung der der Acetate der Digipurpurogenine I und II.

Die Isolierung des Ketals bereitete beim Iso-Dpng-Acetat ähnliche Schwierigkeiten wie beim Isogenin-ketal. Erst als die Umwandlung weitgehend zugunsten des Ketals vonstatten gegangen war, gelang es durch Umkristallisation einige mg davon zu isolieren. Das Analysenergebnis paßte auf die Bruttoformel $C_{24}H_{36}O_5$, was dem Methylketal eines Monoacetats des Genins $C_{21}H_{32}O_4$ entspricht. Die Mikroacetyl-Bestimmung ergab ebenfalls nur e i n e Acetylgruppe.

5. Wasserabspaltungs-Versuche

a) Allgemeines:

Wie bereits mehrfach erwähnt, ist der Leitgedanke einer Konstitutionsermittlung des Digipurpurogenins die Verknüpfung mit der Oxy-progesteron-Reihe. Ein Schritt auf diesem Wege war dabei die Abspaltung der tertiären Hydroxylgruppe, deren Existenz in den IR-Spektren von Dpng(I)-Acetat und von Digipurpurogenon eindeutig nachgewiesen werden konnte.

Es sind verschiedene Methoden zur Wasserabspaltung bei Steroiden angewandt worden, z.B. die der Verwendung von $POCl_3$ in Pyridin (63) oder die der Dehydratisierung mit p-Toluol-Sulfonsäure in Eisessig (64). Bei der Wahl der Bedingungen ist zu überlegen, ob die Abspaltung der tertiären OH-Gruppe beim G e n i n oder bei D e r i v a t e n vorgenommen werden soll. Dies richtet sich in erster Linie natürlich nach der Ausbeute der Reaktion. Beim Digipurpurogenin I stand zur Auswahl, die Dehydratisierung v o r oder nach der O x y d a t i o n der Pregnenolon-Stufe durchzuführen.

GRIMMER (19) versuchte beim Digipurpurogenon unter Verwendung der sog. "Säure-Methode"(siehe weiter unten), Wasser abzuspalten, kam dabei aber nicht zu eindeutigen Ergebnissen. SATOH (14) wendete ebenfalls diese Methode an, als er aus Digipro g e n i n dessen Anhydrogenin darstellte. Die schonendste Methode ist die der Behandlung von Genin - A c e t a t e n mit Thionylchlorid und Pyridin (65), die sich auch bei der hier gestellten Aufgabe als die beste erwiesen hat.

b) Säure-Methode:

Durch Kochen mit alkoholisch-wäßriger Säure gelingt es manchmal, tertiäre Hydroxyl-Gruppen in Form von Wasser

abzuspalten. Eine Wiederholung der GRIMMERschen Versuche (siehe vorige Seite) mit Digipurpurogenon führte ebenfalls zu keinem eindeutigem Befund. Behandlung von Digipurpurogenin I unter den Wasserabspaltungsbedingungen von SATOH (14) ergab eine Reihe von Reaktionsprodukten. Das Rohprodukt ließ sich papierchromatographisch nur bei Verwendung der Systeme VIII und IX trennen; in den üblicherweise verwendeten Gemischen nach F. KAISER (32) liefen alle Reaktionsprodukte mit der Front. "Löschende" Verbindungen traten nicht auf; einige Flecke zeigten im unangefärbten Papierchromatogramm starke Fluoreszenz, was auf Aromatisierungsreaktionen hindeuten könnte.

Eine Anwendung schwächerer Säurekonzentration kommt für eine möglichst quantitative Wasserabspaltung nicht in Frage. An dieser Stelle sei auf die Spaltung des Digipurpurins sowie auf die saure Isomerisierung von Dpng I hingewiesen; wie weiter vorn dargelegt wurde, entstehen immer Sekundär-Produkte, von denen ein Teil durchaus Anhydro-genine sein könnten. Der Anteil solcher im Papierchromatogramm weitlaufenden Verbindungen erhöht sich mit Verschärfung der Spaltbedingungen, wie durch ein eingehendes Studium gefunden wurde. Eine Isolierung dürfte aber schwierig sein, da die Vielzahl der erhaltenen Verbindungen gegen eine brauchbare Ausbeute spricht.

c) Thionylchlorid-Methode:

Die soeben angeführten Schwierigkeiten ließen sich überwinden, als die Abspaltung mit $SOCl_2$ angewendet wurde. Kurzzeitiges Stehenlassen der Acetate mit $SOCl_2$ und Pyridin führte im Falle von Dpng (I)- und Dpng(II)-Acetat zu einheitlichen Reaktionsprodukten. Der Anteil nicht umgesetzter Ausgangssubstanzen hing maßgeblich von der Größe der Ansätze ab: Sog."papierchromatographische" Ansätze verliefen ohne Befund, weil die entsprechenden $SOCl_2$-Mengen so gering waren, daß sich die gesamte Menge

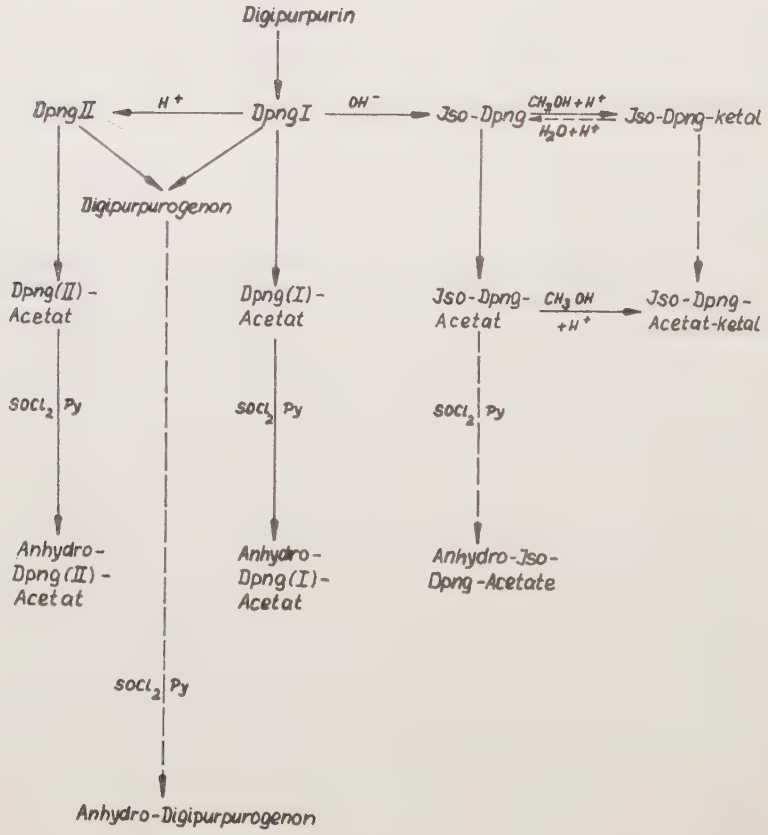
$SOCl_2$ bereits zersetzt hatte, bevor sie reagieren konnte. Bei Vergrößerung der Ansätze gelang die Dehydratisierung; zwar ließen sich die Anhydro-acetate nicht isolieren, wenn nicht wenigstens - wie beim Digipurpurogenin(I)-Acetat - über 100 mg eingesetzt wurden; die Umsetzung konnte aber immer einwandfrei papierchromatographisch festgestellt werden.

Die Anhydro-Acetate von Dpng I und Dpng II zeigten keine Löschung unter der UV-Lampe von 254mμ ; sie sind demnach k e i n e konjugiert ungesättigten Ketone. Das isolierte Anhydro-Digipurpurogenin(I)-Acetat wies dementsprechend auch keine selektive Absorption bei 240mμ auf; lediglich das Absorptionsmaximum bei 212mμ war etwas stärker ausgeprägt ($\log\varepsilon = 3{,}5$ statt 3,0 bei den Geninen).Das IR-Spektrum enthielt k e i n e Hydroxyl-Bande mehr. Das Analysenergebnis paßte auf die Bruttoformel $C_{25}H_{34}O_5$.

Mit Iso-Digipurpurogenin-Acetat verlief die Reaktion nicht so glatt wie bei den Acetaten der Digipurpurogenine I und II. Es entstanden m e h r e r e Wasserabspaltungsprodukte, was auch zu erwarten ist, wenn man berücksichtigt, daß Iso-Dpng-Acetat z w e i freie Hydroxyl-Gruppen besitzt. Wie bereits angedeutet, wird für die Verbindungen der Iso-Reihe ein Halbketal-Ring angenommen (Näheres unter "Konstitutionsbetrachtungen"). Anscheinend läßt sich die dabei neu entstandene Hydroxyl-Gruppe unter den angewandten Bedingungen abspalten.

Anhydro-Digipurpurogenon ließ sich bisher nur papierchromatographisch nachweisen. Die Bildung verlief zwar eindeutig, aber mit wesentlich schlechterer Ausbeute als bei den Acetaten. Daher ließ sich dies Dehydratisierungsprodukt weder durch Umkristallisieren noch durch Säulenchromatographie, bei der es sich zersetzte, isolieren.

Tafel A: R e a k t i o n s - S c h e m a



Durchgezogene Pfeile deuten präparativ durchgeführte, unterbrochene Pfeile papierchromatographisch nachgewiesene Reaktionen an.

6. Konstitutionsbetrachtungen

a) Allgemeines:

Auf Grund der bisher erarbeiteten Versuchsergebnisse, von denen die aufgefundenen Reaktionen auf der vorigen Seite in einem Schema (Tafel A) zusammengestellt wurden, ist es zwar noch nicht möglich, eine endgültige Konstitutionsformel für das Aglykon des Digipurpurins aufzustellen. Mit gewissem Vorbehalt lassen sich die experimentellen Befunde aber wie folgt deuten:

Wie sich aus der Zusammenstellung in Tafel A ergibt, bildet sich bei der Säurespaltung von Digipurpurin primär Digipurpurogenin I. Als Folgeprodukte entstehen daraus Digipurpurogenin II und Iso-Digipurpurogenin. Alle drei Verbindungen sind isomer.

Aus den Wasserstoff-Werten der gemeinsamen Summenformel $C_{21}H_{32}O_4$ folgt, daß für das Kohlenstoff-Skelett Ringverknüpfungen bzw. Doppelbindungen angenommen werden müssen. Weil Digitalis-Inhaltstoffe meistens Steroidgerüste enthalten (s.Einleitung), liegt die Annahme nahe, daß es sich bei den hier zu besprechenden Verbindungen ebenfalls um Steroide handelt, zumal eine große Ähnlichkeit mit den kürzlich von SATOH und Mitarbeitern aufgeklärten Digitanolen besteht (Seite 6).

Wie das isomere Purpnigenin müssen Dpng I und Dpng II sowie Iso-Dpng eine Doppelbindung enthalten, die auch experimentell nachgewiesen werden konnte. Aus den Befunden ergibt sich ferner, daß in den Digipurpurogeninen I und II zwei sekundäre und eine tertiäre Hydroxylgruppe sowie eine Ketogruppe vorliegen. Im Iso-Digipurpurogenin sind die Ketogruppe sowie eine sekundäre OH-Gruppe nicht mehr nachweisbar.

Für die drei Verbindungen werden nun die Formel Ib,IIa und IIIa (Tafel B, Seite 4o) vorgeschlagen, die wie folgt begründet werden:

b) Die Δ^5-3ß-OH-Gruppierung:

Aus Analogiegründen wird eine 3ß-Hydroxylgruppe angenommen, denn in fast allen Digitalis-Glykosiden ist die Zuckerkomponente über eine ß-ständige sekundäre Hydroxylgruppe am C-Atom 3 mit dem Aglykon verknüpft (5).

Daß sich die Doppelbindung in der Nähe dieser Hydroxylgruppe befindet, geht aus folgenden Befunden hervor, die die obige Annahme damit bestätigen:

1. Dies folgt aus den Ergebnissen der Oxydation von Dpng I und Dpng II (Seite 22 f.) Bei der Oxydation von Digipurpurogenin I nach OPPENAUER geht die Doppelbindung in Konjugation zur neu entstandenen Ketogruppe. Das Hauptprodukt und ein Nebenprodukt zeigen die für Δ^4-3-Ketone typische UV-Absorption (66) mit einem Maximum bei 24omμ ($\log\varepsilon$ = 4,2). Im IR-Spektrum liegen entsprechende Banden bei 1672 und 1618 cm^{-1}(67). Daher kann für das Ausgangsprodukt Δ^5-3-OH-Gruppierung angenommen werden (Seite 2o). Dafür spricht auch die Bande bei 1o2o cm^{-1} im IR-Spektrum des Genins (68).

   Bei der Oxydation von Dpng I und Dpng II mit KILIANI-Lösung bildeten sich primär nichtlöschende Verbindungen, in denen die Doppelbindung ihre ursprüngliche 5,6-Lage beibehalten haben dürfte. Bei der Aufarbeitung entstand aber durch Al_2O_3-Chromatographie dasselbe Hauptprodukt wie bei der OPPENAUER-Oxydation von Digipurpurogenin I. Auf das Nebenprodukt wird auf Seite 38 noch eingegangen.

2. Im IR-Spektrum des Dpng(I)-Acetats liegt bei 1o3o cm^{-1} eine für Δ^5-3ß-Acetoxy-Steroide charakteristische Bande (69). Daß die Acetat-Bande bei 124o cm^{-1} nicht aufgespalten erscheint, ist ein Kennzeichen für die äquatoriale Stellung der Acetat-Gruppe am C-Atom 3(7o).

3. Die Annahme einer Δ^5-3-OH-Gruppierung bei Digipurpurogenin I und seinen Isomerisierungsprodukten Digipurpurogenin II und Iso-Digipurpurogenin wird durch

den positiven Ausfall der Reaktion nach WITTER und STONE (35) bei diesen Verbindungen noch gestützt.

c) Die Ketogruppe in C-2o:

Aus der Lage der Carbonylbande im IR-Spektrum des Digipurpurogenins I läßt sich lediglich angeben, daß sich die Ketogruppe in einem Sechsring oder in der Seitenkette befindet. Durch Auswertung der Banden zwischen 15oo und 135o cm^{-1}(71) ließ sich diese Frage zugunsten einer C-2o-Ketogruppe entscheiden. Bei dem Absorptionsmaximum bei 1358 cm^{-1} handelt es sich zweifellos um die sog. "O"-Bande, die einer C-21-Methylgruppe in Nachbarschaft zur Ketogruppe in C-2o entspricht.

Die gleiche Gruppierung liegt bei den kürzlich von SATOH und Mitarbeitern aufgeklärten Digitanolen Digiprogenin, Purpnigenin und Purprogenin vor (Seite 6).

Im Gegensatz zu Dpng I und Dpng II zeigt Iso-Digipurpurogenin (Formel IIIa) k e i n e Carbonylbande im IR-Spektrum. Wie bereits auf Seite 18 angedeutet wird angenommen, daß die 2o-Ketogruppe durch Halbketal-Bildung kaschiert ist. Dafür spricht die Erscheinung, daß das Isogenin und dessen Acetat mit Methanol und Säuren Methyl-ketale bilden, die sich sauer spalten lassen und dabei die Isogenin-Verbindung rückbilden. Da Iso-Digipurpurogenin auf Grund der Analysenwerte mit den Digipurpurogeninen I und II isomer ist, muß ein Halbketalring vorliegen, an dem eine Hydroxylgruppe der Geninmolekel beteiligt ist.

Das geht auch daraus hervor, daß Iso-Digipurpurogenin ein M o n o a c e t a t bildet, während bei Dpng I und Dpng II zw e i Hydroxylgruppen acetylierbar sind. Es muß also eine sekundäre OH-Gruppe durch die Halbketal-Bildung blockiert sein.

Bevor auf die Stellung dieser Hydroxylgruppe eingegangen wird, soll noch kurz die Konfiguration der C-17-Seitenkette betrachtet werden, weil diese für die Halbketalring-

Bildung wichtig ist. Da Digipurpurogenin I sehr wahrscheinlich das n a t i v e Aglykon des Digipurpurins ist, darf die Seitenkette bei diesem Genin wohl in 17ß angenommen werden, wie das bei Naturstoffen allgemein der Fall ist.

Wegen der stets ß-ständigen angulären Methylgruppe in C-18 kann der Halbketalring nur gebildet werden, wenn beide an der Ringbildung beteiligten Substituenten α-ständig sind. Daher muß die C-17-Seitenkette beim Übergang von Digipurpurogenin I zu Iso-Digipurpurogenin nach 17α umklappen, um den Ringverschluß zu ermöglichen.

d) Die Hydroxylgruppe an C-12:

Wie bereits auf der vorigen Seite ausgeführt, kommt für die Halbketalring-Bildung nur eine sekundäre OH-Gruppe in Frage. Die C-3-Hydroxylgruppe muß ausgeschlossen werden, weil die betreffende OH-Gruppe in der Nähe der Ketogruppe stehen muß. Daher muß angenommen werden, daß die Sauerstoff-Funktion an dem Halbketalring beteiligt ist, die bei den Digipurpurogeninen I und II als zweite sekundäre Hydroxylgruppe in Erscheinung tritt.

Vor dem Auffinden der alkalischen Isomerisierung war auf Grund der IR-Spektren des Digipurpurogenons für diese Sauerstoff-Funktion 11- oder 12-Stellung anzunehmen. Wenn die 2o-Ketogruppe ketalisiert, ist die Bildung eines Ringes aus sterischen Gründen nur nach C-12 möglich. Ferner folgt nach dem bereits Gesagten für die den Halbketalring bildende Hydroxylgruppe α-Stellung.

GRIMMER fand bei Anwendung seiner "numerischen Chromsäure-Oxydation" (72) auf Digipurpurogenin I, daß die zweite sekundäre Hydroxylgruppe eine rasch oxydierbare und daher axiale ist, was die obige Annahme stützt (19).

Digipurpurogenin II (Formel IIa) bildet im Gegensatz zu Dpng I k e i n Isogenin, was einen Anhaltspunkt dafür geben dürfte, daß die Isomerie dieser beiden Verbindungen in einem Bereich der Molekel fixiert sein muß, der für die

Bildung des Halbketal-Ringes verantwortlich ist. Verhindert würde solch eine Ringbildung, wenn einer oder beide daran beteiligten Substituenten nicht die dafür erforderliche α-Konfiguration besäßen bzw. diese nicht durch Umlagerung - wie die der Seitenkette beim Digipurpurogenin I- einnehmen könnten.

Weil b e i d e Genine, Dpng I und Dpng II, das gleiche Oxydationsprodukt bilden, darf wohl angenommen werden, daß die Seitenkette bei beiden Verbindungen die gleiche Konfiguration, nämlich 17ß, besitzt. Ferner läßt sich vermuten, daß die Seitenkette bei Dpng II mit methanolischem Alkali genauso umklappt wie bei Dpng I. Daß es unter diesen Isomerisierungsbedingungen bei Digipurpurogenin II nicht zur Bildung eines Halbketals kommt, kann nur dadurch erklärt werden, daß der zweite ringbildende Substituent, also die Hydroxylgruppe am C-Atom 12, ß-Konfiguration besitzt.

Der Unterschied der beiden Digipurpurogenine I und II wäre somit in einer Epimerie am C-Atom 12 zu sehen. Bevor Betrachtungen über den Mechanismus der Umlagerung von 12α- nach 12ß-OH angestellt werden, muß auf die Stellung der tertiären Hydroxylgruppe eingegangen werden, die dabei herangezogen wird.

e) Die tertiäre Hydroxylgruppe in 14α:

Für die tertiäre Hydroxylgruppe ist in Analogie zu den Cardenoliden die 14-Stellung in Betracht zu ziehen. Die leichte Abspaltbarkeit dieser Gruppe mit Thionylchlorid in Pyridin spricht gegen 8- oder 9-Stellung (vgl. z.B.3o). Weil die erhaltenen Anhydroacetate keine Löschung im UV zeigten, muß eine 17-OH-Gruppe ausgeschlossen werden; Digiprogenin bildet durch Wasserabspaltung z.B. ein konjugiert ungesättigtes Δ^{16}-2o-Keton (14).

Für die 14-Hydroxylgruppe dürfte α-Konfiguration angenommen werden, weil im allgemeinen bei der stabileren Verbindung - in diesem Falle beim Digipurpurogenin II - Seitenkette und der Substituent an C-14 trans zueinander stehen. Die Ringe C und D wiesen somit trans-Verknüpfung auf im Gegensatz zu den Cadrenoliden. Die gleiche Anordnung wie

beim Genin II muß auch in Digipurpurogenin I vorliegen, weil beide Verbindungen das gleiche Hauptprodukt der Oxydation bilden. Eine Änderung der Ringverknüpfung wäre auch nur bei Anwesenheit einer Ketogruppe am C-Atom 15 möglich (14/73/74/75). Ferner wurde sie bisher nur bei solchen Verbindungen beobachtet, die am C-Atom 14 unsubstituiert sind. Die Annahme einer 14α-Hydroxylgruppe ergibt nun eine Erklärung für die auf der vorigen Seite erwähnte Epimerisierung am C-Atom 12:

Durch Fixierung des Ringes C in der Sesselform gelangen die d i a x i a l e n 12α- und 14α-OH-Gruppen in unmittelbare Nachbarschaft zueinander, sodaß eine starke gegenseitige Beeinflussung gegeben ist. Diese kommt beispielsweise im papierchromatographischen Verhalten der Genine zum Ausdruck. Der im Vergleich zum Dpng II größere Rf-Wert des Digipurpurogenins I weist auf eine Wasserstoffbrücken-Bindung bei letzterem hin.

In saurer Lösung dürfte ein Proton an die 12α-Hydroxylgruppe angelagert werden. Intermediäre Wasserabspaltung führt dann zur Ausbildung eines Carbeniumions an C-12. Bei der anschließenden Anlagerung von OH- bildet sich die 12ß-OH-Gruppe, die als äquatoriale ohnehin thermodynamisch stabiler ist als die axiale 12α-Hydroxylgruppe.

f) Oxydationsprodukte:

Der bereits mehrfach erwähnte Befund von H.MACHLEIDT(2o), daß Dpng I und Dpng II bei Oxydation das gleiche Hauptprodukt bilden, läßt sich mit den für diese beiden Verbindungen vorgeschlagenen Formeln in Einklang bringen. Sowohl 12α- als auch 12ß-Hydroxy-Verbindungen bilden das entsprechende 12-Keton (Formel IV).

Wie auf Seite 22 mitgeteilt, erhielt MACHLEIDT ein anderes Nebenprodukt der Oxydation von Digipurpurogenin I als GRIMMER. Beide Verbindungen zeigten im UV Löschung, unterschieden sich aber in ihren Rf-Werten beträchtlich. Das MACHLEIDT-"Diketon" hat einen kleineren Rf-Wert als das Diketon von GRIMMER.

Zur Erklärung kann die eigene Beobachtung herangezogen werden, daß sich das GRIMMER-Diketon in das "Diketon" von MACHLEIDT an Al_2O_3 und $CHCl_3$ umgewandelt hat (Seite 24).

Während GRIMMER bei der Chromatographie seines OPPENAUER-Ansatzes schnell eluiert hatte, behielt MACHLEIDT das Rohprodukt länger auf der Säule, sodaß angenommen werden kann, die beobachtete Umwandlung habe hier vollständig stattgefunden.

Diese Umwandlung beruht vermutlich wie bei der alkalischen Isomierisierung von Digipurpurogenin I primär auf einem Umklappen der Seitenkette von 17ß nach 17α. Dadurch dürfte bei α-ständiger 12-Hydroxylgruppe die Bildung eines Halbketal-Ringes zwischen dieser und der 2o-Ketogruppe ermöglicht werden. Das MACHLEIDT-"Diketon"weist dementsprechend einen kleineren Rf-Wert auf als das Diketon von GRIMMER, was für die Verbindungen der Iso-Reihe typisch ist(S. 18).

g) Wässerabspaltungsprodukte:

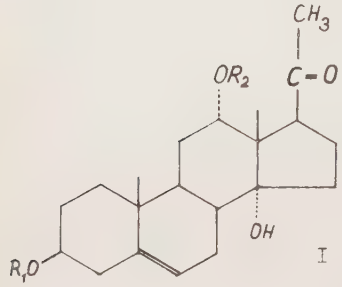
Bei Eliminierung der tertiären Hydroxylgruppe entsteht durch Wasserabspaltung eine weitere Doppelbindung, über deren Lage vorerst nur folgendes vermutet werden kann:

Da die Dehydratisierung bekanntlich immer in trans-Stellung der OH-Gruppe und eines benachbarten H-Atoms erfolgt(76), kann diese Doppelbindung von 8 nach 14 o d e r von 14 nach 15 liegen. Aus Analogiegründen zu den Cardenoliden dürfte die $\Delta^{14:15}$-Lage wahrscheinlicher sein; sie ist daher in den Formeln der Anhydro-Produkte angegeben(VII,VIII und IX).

Eine Entscheidung zwischen den beiden aufgezeigten Möglichkeiten ließe sich nur durch eine Hydrierung fällen, denn die ditertiäre $\Delta^{8:14}$-Doppelbindung läßt sich nicht hydrieren. Aus Substanzmangel konnte die Hydrierung aber nicht durchgeführt werden.

In Tafel C sind die Anhydroprodukte der Wasserabspaltungs-Versuche mit Iso-Digipurpurogenin-Acetat nicht aufgenommen worden, weil diese Verbindungen nicht isoliert werden konnten und weil die auf Seite 7o ausgesprochenen Zuordnungen nur vermutet werden.

Tafel B: F o r m e l - V o r s c h l ä g e

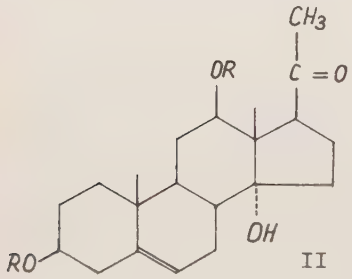


I

a) Digipurpurin: R_2 = H
R_1 = 3 D-Digitoxose

b) Digipurpurogenin I: R = H

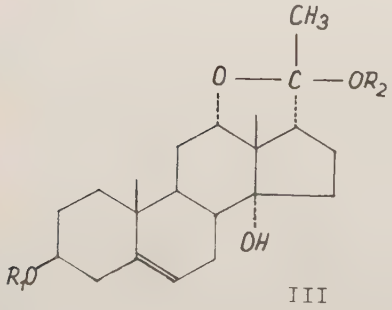
c) Dpng(I)-Acetat: R_1=R_2=Ac



II

a) Digipurpurogenin II:
R = H

b) Dpng(II)-Acetat:
R = Ac



III

a) Iso-Digipurpurogenin:
R_1 = R_2 = H

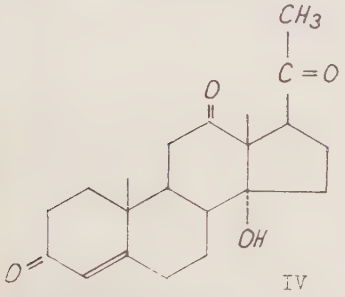
b) Iso-Dpng-ketal:
R_1 = H: R_2 = CH_3

c) Iso-Dpng-Acetat:
R_1 = Ac R_2 = H

d) Iso-Dpng-Acetat-ketal:
R_1 = Ac R_2 = CH_3

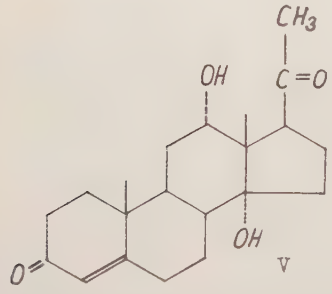
Tafel C: F o r m e l - V o r s c h l ä g e

Oxydationsprodukte:



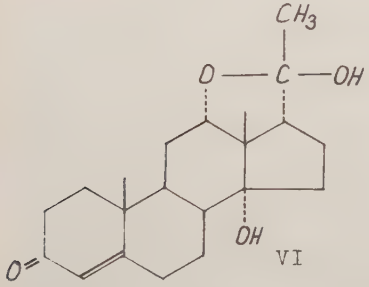
IV

Digipurpurogenon



V

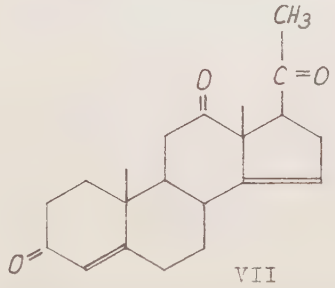
Diketon(GRIMMER)



VI

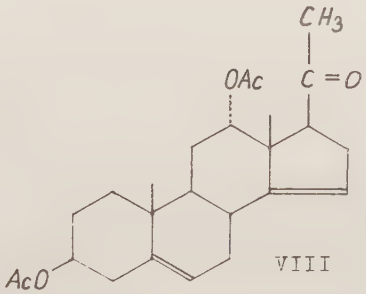
"Diketon" (MACHLEIDT)

Wasserabspaltungsprodukte:



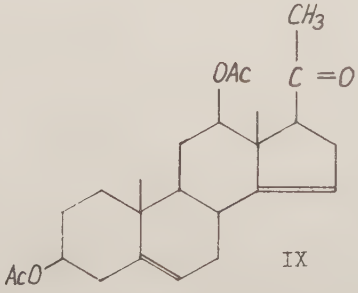
VII

Anhydro-Digipurpurogenon



VIII

Anhydro-Dpng(I)-Acetat



IX

Anhydro-Dpng(II)-Acetat

III. E X P E R I M E N T E L L E R T E I L !

1. A l l g e m e i n e s

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Mikroskop-Heiztisch nach WEYGAND bestimmt; die Angaben sind unkorrigiert.

Die UV-Spektren wurden mit einem ZEISS-Spektrophometer (Modell PMQ-II) gemessen. Die Aufnahmen der IR-Spektren sind von Herrn ROSE im hiesigen Organischen Istitut mit einem PERKIN-ELMER-Spektrometer (Modell 21) sofern nicht anders vermerkt in KBr durchgeführt worden.

Die C-H-Mikroanalysen führte Herr Dr. A. SCHOELLER, Kronach aus. Die Bestimmungen konnten zum Teil aus Substanzmangel nicht wiederholt werden.

Die Mikroacetyl-Bestimmungen wurden von Herrn Priv.-Doz. Dr. G. GRIMMER, Hamburg durchgeführt, wofür ihm auch an dieser Stelle herzlich gedankt sei.

Auch der Firma C.F.BOEHRINGER u. Co., Mannheim-Waldhof sei hier für die Überlassung von Ausgangsmaterial (Verodigen) vielmals gedankt.

Bei der Adsorptionschromatographie wurde ausschließlich Aluminiumoxyd der Aktivitätsstufe I, neutral, alkalifrei der Firma WOELM, Eschwege verwendet. Dieses wurde entweder ungesiebt eingesetzt oder vorher durch Sieben in Anteile einheitlicher Korngröße aufgetrennt (77). Von diesen wurden diejenigen der Korngrößen o,12, o,1o- o,12 und o,o85 - o,1o mm benutzt, was folgenden Maschenzahlen (pro cm^2) entspricht: 36oo, 49oo bzw. 64oo. Die Substanzen wurden entweder in möglichst konzentrierter Lösung auf die Säule gebracht oder vorher auf die dreifache Menge Aluminiumoxid aufgezogen. Das Füllen der Säulen geschah durch Einschlämmen.

Bei der Papierchromatographie fanden folgende Gemische - aufsteigend und z.T. auch absteigend - Verwendung:

I	Xylol-Butanon (1:1)	gesättigt	mit	Formamid
II	Toluol-Butanon (1:1)	"	"	"
III	Chloroform	"	"	"
IV	Benzol/Chloroform (1:1)	"	"	"
V	Benzol	"	"	"
VI	Cyclohexan/Bz (1:2)	"	"	"
VII	Cyclohexan/Benzol (2:1)	"	"	"
VIII	Cyclohexan	"	"	Dimethyl-formamid
IX	Heptan	"	"	Benzylalkohol - Formamid (1:1)

Als Chromatographie-Papier gelangte ausschließlich dasjenige der Nr. 2o43 b der Firma SCHLEICHER u. SCHÜLL, Dassel, zur Anwendung; bei den Systemen I bis VII wurde es vorher mit einer 2o%-igen Lösung von Formamid in Aceton imprägniert, beim System VIII mit einer 3o%-igen Acetonlösung von Dimethyl-formamid und beim System IX mit einer ebenfalls 3o%-igen Lösung von Benzylalkohol/Formamid (1:1) in Aceton.

Zum Anfärben wurden folgende Lösungen verwendet:

Antimontrichlorid (2o% in Chloroform) (33)

3,5-Dinitro-benzoesäure nach KEDDE (37)

Triphenyl-Tetrazolium-chlorid (TTC) (38)

Perjodat-Reagenz nach VISCONTINI (39)

Natronlauge (1o% in Wasser) (6o)

Zur Auswertung der Papierchromatogramme dienten folgende Analysenlampen der Quarzlampen-Gesellschaft, Hanau als Quellen für UV-Licht:

1. 366m μ für $SbCl_3$-Papierchromatogramme
2. 254m μ für unangefärbte Papierchromatogramme, um sog. Löschungen zu erkennen (Seite 2o)

Abkürzungen:

Bz	Benzol	Py	Pyridin
Cf	Chloroform	Pä	Petroläther
M	Methanol	Dx	Dioxan
Ä	Äther	Eg	Essigester
An	Aceton	Fo	Formamid
Hn	Heptan	Dmf	Dimethyl-formamid
Ch	Cyclohexan	TNM	Tetranitromethan
TTC	Triphenyl-tetrazolium-chlorid		
MZ	Maschenzahl	i.V.	im Vakuum
Pch	Papierchromatographie		
Dgn	Diginin	Dfn	Digifolein
Dpn	Digipurpurin	Dpng	Digipurpurogenin
Dtn	Digitoxin	Dtng	Digitoxigenin
Gtn	Gitoxin	Gtng	Gitoxigenin
Pn	Purpnin	Png	Purpnigenin
Str	Strospesid		

2. Digipurpurin

a) Adsorptionschromatographie:

55 g Verodigen (Gitalin-Charge AK I) wurden in 275 ml Eg 3o min auf 5o°C erwärmt und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Am anderen Morgen wurden 15 g Rückstand abgesaugt und mit Eg nachgewaschen (28).

Das Filtrat wurde mit der Waschflüssigkeit vereint i. V. eingedampft und in wenig Cf gelöst auf 1,6 kg ungesiebtes Al_2O_3 gebracht, das vorher mit Cf in die Säule eingeschlämmt worden war. Die Fraktionsgröße betrug 1 Liter.

Die einzelnen Fraktionen wurden i.V. bei 4o-45°C eingedampft und in Cf/M (1:1) gelöst und papierchromatographisch untersucht. Dabei wurde das System I benutzt; sichtbar gemacht wurden die Flecke mit $SbCl_3$ (33). Digipurpurin zeigt bei Tageslicht die für 2-Desoxy-zucker typische blauschwarze Färbung und unter der UV-Lampe eine rote Fluoreszenz, die nicht sehr intensiv ist.

Auf Grund der papierchromatographischen Befunde wurden Fraktionen weitgehend gleichen Inhalts vereinigt; solche Sammelfraktionen erhielten römische Zahlen, während die Einzelfraktionen mit arabischen bezeichnet wurden.

Nr	Eluiermittel		Menge	Papierchromatogramme
I	Cf	5 lt	55 mg	Vorläufe
II	" 2% M	4 "	1,52o g	Gtng + Dgn (?)
III			3,62o g	Gtng + Str + Dfn
IV			2,67o g	Gtng + Str
V	" 4% M	2 "	69o mg	Str + Gtng + Dtn
VI	" 8% M	1o "	1,3o5 g	Str + Dtn + Gtn
VII			1o,29o g	Dtn + Dpn + Gtn + Str
VIII	"5o% M	5	3,135 g	Gtn + Dpn
IX	M	3 "	1,435 g	Gtn

Die 10,29 g der Dpng-haltigen Sammelfraktion VII wurden anschließend an 300 g Al_2O_3 (MZ 4900) chromatographiert, wobei die Größe der einzelnen Fraktionen 250 ml betrug.

Nr.	Eluiermittel	Menge	Papierchromatogramme
I	Cf	1 lt 255 mg	Vorläufe
II	" 1% M	3 " 6,650 g	Dtn + Dpn + Str
III	" 2% "	2 " 1,535 g	Dtn + Dpn + Gtn
IV		2 " 1,800 g	Gtn

Wie aus obiger Tabelle ersichtlich, führte die Zweitchromatographie n i c h t zum gewünschten Ziel einer weitgehenden Trennung von Digipurpurin und der anderen Glykoside; sie brachte lediglich eine mäßige Anreicherung des Digipurpurins. Daher wurde mit den vereinigten Sammelfraktionen II und III eine Verteilungschromatographie durchgeführt (siehe folgende Seite).

Im Anschluß daran wurden weitere Mengen Verodigen verarbeitet, allerdings nur zur Gewinnung von Roh-Digipurpurin, das dann größtenteils gespalten wurde.

So wurden noch 110 g der Charge Ak I in zwei Portionen wie oben beschrieben roh-chromatographiert. Die Dpn-haltigen Fraktionen (12,765 g + 11,380 g) wurden vereint und einer Zweitchromatographie unterworfen, wobei das gesamte Digipurpurin auf 18,35 g Roh-Glykosid konzentriert wurde. - Später wurden 200 g Verodigen (Charge 31348) in zwei Portionen auf Roh-Digipurpurin aufgearbeitet. Die Rückstände der Essigester-Behandlung wurden an Al_2O_3 aufgezogen,und die Säulen wurden mit Essigester und Eg/M-Gemischen eluiert. Auf diese Weise konnten 40,3 g und 39,5 g Roh-Digipurpurin gewonnen werden, die wie unter III/3 beschrieben gespalten und auf Digipurpurogenin I aufgearbeitet wurden.

b) Verteilungschromatographie:

5oo g "Celite" 545 wurden in Methanol aufgeschlämmt, erwärmt und nach dem Abkühlen in eine Säule gegeben, deren Mantel mit Hilfe eines kleinen Thermostaten isotherm gehalten wurde. Dann wurde das Celite mit Formamid gespült, das anschließend mit mobiler Phase (Bz/Cf 1:1, Fo gesättigt) verdrängt wurde. Die 8,2 g Roh-Digipurpurin (vorige Seite) wurden in wenig mobiler Phase gelöst und auf die so vorbereitete Säule gegeben.

Anschließend wurde mit der mobilen Phase eluiert, bis keine Dpng-haltigen Fraktionen mehr von der Säule kamen. Das Eluat wurde mit Hilfe eines automatischen Fraktionssammlers in Anteilen zu je 1o ml aufgefangen. Jede 8. Fraktion wurde i. V. eingedampft und papierchromatographisch untersucht. Dabei störte noch vorhandenes Formamid, weil der Eindampfrückstand nur ungenau bestimmt werden konnte, und weil die Flecke schon beim Auftragen weit auseinander liefen. Später wurde der Rückstand daher in Chloroform aufgenommen und mehrfach mit Wasser ausgeschüttelt.

Nr.	Segmente	Menge	Papierchromatogramme
I	1 - 5	7oo mg	Vorläufe
II	6 - 14	1,6oo g	Digitoxin
III	15 - 18	58o mg	Dgt + Dpn
IV	19 - 39	8oo mg	Digipurpurin

Das Digipurpurin der Sammelfraktion IV war noch nicht ganz rein, sondern enthielt noch zwei Begleiter, die nach Einsprühen mit $SbCl_3$ im UV-Licht stark blau fluorezierten. Der Trenneffekt dieser Verteilungschromatographie war gut; er wurde allerdings mit einem so großen Aufwand an Zeit und Lösungsmitteln erzielt, daß davon abgesehen wurde, weiteres Roh-Digipurpurin auf diese Weise zu reinigen.

c) Feinchromatographie:

Die Sammelfraktion IV (der Verteilungschromatographie) wurde nochmals an gesiebtem Al_2O_3 chromatographiert, um Spuren von Formamid und die Begleiter weitgehend zu entfernen. Der e r s t e Versuch brachte nur eine weitere Anreicherung des Digipurpurins, aber keine Abtrennung der Begleiter, weil die Hauptmenge durchlief, d.h. eluiert wurde, ohne richtig adsorbiert worden zu sein.

Daher wurden alle Fraktionen zu nur zwei Sammelfraktionen zusammengefaßt und diejenige mit der Hauptmenge Digipurpurin nochmals chromatographiert. Diesmal wurde die Substanz an Al_2O_3 aufgezogen und nicht gelöst auf die Säule gebracht. Auf diese Weise wurden insgesamt 54o mg Roh-Digipurpurin an 5o g Al_2O_3 (MZ 49oo) chromatographiert, die Fraktionsgröße betrug dabei 25 ml.

Nr.	Eluiermittel		Menge	Papierchromatogramme
I	Bz/Cf (1:1)	o,5 lt.	65 mg	Vorläufe
	Chloroform	o,2 "		
	Cf 1% M	o,2 "		
II	" 2% "	o,2 "	3o mg	Purpnin (?)
III	" 4% "	o,2 "	295 mg	Dpn (Pn ?)
	" 8% "	o,3 "		
IV	" 16% "	o,1 "	55 mg	Dpn + Pn + Gtng
	" 32% "	o,1 "		
	" 64% "	o,1 "		
V	Methanol	o,4 "	1o mg	

Die Sammelfraktion III enthielt fast 3oo mg Digipurpurin, das nur noch von einem anderen Glykosid begleitet wurde; es diente für Spaltungsversuche (folgende Seite). Weil dabei auch Purpnigenin (Seite 6) entstand, dürfte es sich bei dem blau fluoreszierenden Begleiter um dessen Glykosid (Purpnin) gehandelt haben.

3. Digipurpurogenin I

a) Studium der Spaltbedingungen:

Je 1o mg Digipurpurin (vorige Seite) wurden in 1 ml CH_3OH gelöst und auf die Versuchtemperatur erhitzt (7o-8o°C); dann wurde mit dem gleichen Volumen wäßriger Salzsäure der gleichen Temperatur gemischt und mehrere Minuten lang weiter erhitzt. Die Aufarbeitung geschah wie unter 3/b beschrieben. Die Chloroform-Rückstände wurden papierchromatographisch unter Verwendung des Systems I untersucht.

Als Ergebnis dieser Versuchsreihe läßt sich mitteilen:

1) Bei einer Versuchstemperatur von 7o°C und einer Versuchsdauer von 3 Minuten ließ sich bei einer Säurekonzentration von 0,1n HCl in der Mischung v o l l s t ä n d i g e Spaltung erzielen.

2) L ä n g e r e s Erhitzen unter sonst gleichen Bedingungen begünstigte die Bildung von Sekundärprodukten des Digipurpurogenins I.

3) Bei schwächerer Säurekonzentration waren längere Erhitzungszeiten bzw. höhere Spalttemperaturen erforderlich, um diese vollständig zu gestalten; auch solche Bedingungen führten zur Vermehrung der Umwandlungsprodukte von Digipurpurogenin I.

Bei den Versuchen störte der B e g l e i t e r des Digipurpurins etwas, weil dieses Glykosid ebenfalls gespalten und weil dessen Aglykon vermutlich auch umgewandelt wird. Es bildeten sich bei verschärften Spaltbedingungen z w e i Flecke, die mit $SbCl_3$ im UV-Licht gleichfalls blau fluoreszierten. Die kürzer laufende Verbindung hatte den gleichen Rf-Wert wie Digipurpurin, die weiter laufende wurde als Purpnigenin (Seite 6) identifiziert. Bei härteren Spaltbedingungen bildete sich noch eine blau fluoreszierende Substanz mit einem Rf-Wert von der Größenordnung der Iso-Genine.

b) Spaltung von Roh-Digipurpurin:

Ca. 8o g Roh-Digipurpurin (aus 2oo g Verodigen 31348) wurden in 8oo ml Methanol gelöst und auf 7o°C erhitzt. Dann wurde mit der gleichen Menge o,2n HCl auf 7o°C versetzt und das Gemisch noch 3 Min. bei derselben Temperatur belassen. Anschließend wurde noch heiß mit gesättigter $NaHCO_3$-Lösung neutralisiert und beim Abkühlen i.V. das Methanol abgedampft. Die erkaltete Lösung wurde daraufhin mehrfach mit Chloroform ausgeschüttelt und die vereinigten Cf-Phasen nach Rückschüttlung mit Wasser i.V. eingedampft.

c) Chromatographie des Genin-Gemisches:

Der Cf-Rückstand (42,8 g) wurde anschließend in wenig Cf gelöst an 85o g Al_2O_3 (MZ 36oo) chromatographiert; die Fraktionsgröße betrug 1 Liter.

Nr.	Eluierungsmittel		Menge	Papierchromatogramme
I	Chloroform	2 lt	5,48o g	Dianhydro-Gtng + Dtng
II	Cf 1% M	1 "	4,27o g	Dtng
III	" 2% "	1 "	9,87o g	Dpng(I + II) + Png
IV	" 4% "	1 "	6,35o g	Dpng + Png + Gtng
V	" 8% "	1 "	2,78o g	Gtng + Str
	" 16% "	1 "		
	" 32% "	1 "		
	" 64% "	1 "		
VI	Methanol	2 "	1,775 g	Gtng + Gtn + Str

Die Sammelfraktion III (= 9,87 g Roh-Digipurpurogenin) wurde anschließend an 3o g Al_2O_3 (MZ 64oo) aufgezogen und an 2oo g Al_2O_3 gleicher Korngröße rechromatographiert, wobei Fraktionen von je 25o ml Eluat genommen wurden.

Nr.	Eluierungsmittel		Menge	Papierchromatographie
I	Bz/Cf(1:1)	1 lt	1,48o g	Dianhydro-Gtng + Dtng
II	Chloroform	1 "	o,58o g	Digitoxigenin
III	Cf 1% M	1 "	o,426 g	Dtng + Dpng
IV	" 2% "	1 "	3,13o g	Dpng(I+II) + Png
V			1,89o g	Png + Dpng + Iso-Dpng
VI			1,27o g	Png + Gtn
VII	Cf 4% "	1 "	o,31o g	Gtng + Str

Durch Umkristallisieren aus Eg/Ä wurden aus den Sammelfraktionen IV, V und VI 1,535 g, 1,128 g und 2o3 mg Roh-Digipurpurogenin erhalten. Das Kristallisat V wurde dann aus An/Ä/Pä umkristallisiert, wobei 58o mg Nadeln vom Fp = 11o/17o - 175°C erhalten wurden. Die Mutterlauge davon wurde zusammen mit den Kristallisaten IV und VI nochmals aus Eg/Ä umkristallisiert.

Die Mutterlauge davon wurde zusammen mit den Mutterlaugen der 1. Eg/Ä-Kristallisation der Fraktionen IV, V und VI sowie mit der Sammelfraktion III rechromatographiert.

Insgesamt wurden 72,85 g Roh-Genin an 14oo g Al_2O_3(MZ 36oo) rechromatographiert, außer den obigen Mutterlaugen handelte es sich dabei um Dpng-haltige Fraktionen weiterer Dpn-Spaltungen. Die Fraktionen hatten eine Größe von 1 Liter.

Nr.	Eluierungsmittel		Menge	Papierchromatogramme
I	Bz/Cf (1:1)	4 lt	2,28 g	Vorläufe
	Chloroform	3 "		
II	Cf 1% M	1 "	13,66 g	Dtng + Png + Dpng
III	" 2% "	1 "	8,65 g	Png + Dpng (I + II)
IV	" 4% "	2 "	1,26 g	Dpng + Png + Str
V	" 32% "	2 "	3,84 g	Png + Str + Iso-Dpng

Die Fraktionen II, III und IV wurden aus Eg umkristallisiert, was bei II fast 9 g Digitoxigenin, bei III 5,7 g Digipurpurogenin I und bei IV 44o mg Dpng ergab, das mehr Dpng II enthielt als das Kristallisat der Fraktion III. Die Mutterlaugen davon wurden vereint und aus Eg/Ä umkristallisiert; das führte zu 73o mg Dpng von gleicher Reinheit wie das Kristallisat der Sammelfraktion IV.

Die 5,7 g Digipurpurogenin I (der Sammelfraktion III) sind dann noch mehrfach aus M/W umkristallisiert worden; schließlich konnten so 2,4 g Rhomboeder vom Schmelzpunkt 17o-175°C erhalten werden. Die gut ausgebildeten Kristalle zeigten beim Erhitzen kaum "Gasen", verwitterten aber beim Stehen an der Luft.

Aus den Mutterlaugen konnte eine 2. Kristall-Fraktion erhalten werden, die aber wie deren Mutterlauge stark Purpnigenin-haltig war. Beide Gemische, die außerdem auch Digipurpurogenin II angereichert enthielten, wurden später zur Isomerisierung von Dpng I eingesetzt.

d) Eigenschaften des Digipurpurogenins I:

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = 51 \pm 2^o$ (c = 1,27; Cf)

Spektren: UV-Maximum bei 211mμ ($\log\epsilon$ = 3,o7)
IR-Banden bei 34oo cm^{-1} (in Cf)
1695 cm^{-1}

Rf-Werte: o,4o(I), o,5o(III), o,2o(IV) und o,o5(V)

Farbreaktionen:
$SbCl_3$ (Papier) orange-rot (UV) orange-rot
KEDDE und TTC (Papier) sehr schwach positiv
VISCONTINI (Papier) negativ
Tetranitromethan und nach WITTER u. STONE positiv

4. Digipurpurogenin II

a) Aus Digipurpurogenin I:

Je 1o mg Dpng I (vorige Seite) wurden in 1 ml Methanol gelöst und nach Erhitzen auf die Versuchstemperatur (7o bzw. 75°C) mit dem gleichen Volumen o,2n HCl derselben Temperatur versetzt. Nach weiterem Erhitzen (Dauer in unterer Tabelle) wurde wie üblich aufgearbeitet und papierchromatographiert (ebenfalls System I).

Nr.	T(°C)	t(min)	Papierchromatographische Befunde
1	7o°	3	Dpng I weiterhin Hauptfleck
2	"	5	Dpng II neben Iso-Dpng
3	"	15	viel Iso-Dpng neben Dpng (I + II)
4	"	3o	vorwiegend "Weitlaufende"neben Iso-Dpng
5	75°	3	Hauptfleck weiterhin Dpng I
6	"	5	Dpng I und Dpng II etwa gleich
7	"	15	viel Dpng II neben Dpng I, Iso u. "Weitlaufende"
8	"	3o	viele "Weitlaufende" neben Dpng II, Iso u. Dpng I

Nach diesen Ergebnissen sind die optimalen Isomerisierungsbedingungen die unter (7) angegebenen (siehe folgende Seiten).

Als "Weitlaufende" wurden in der Tabelle Verbindungen bezeichnet, die sich im Pch folgendermaßen charakterisieren lassen:

Rf-Werte: (Syst. I)	(1)	o,8o	(2)	o,7o	(3)	o,6o
$SbCl_3$ (Papier):		gelb		rot		orange

Wegen der im Vergleich zu den Digipurpurogeninen relativ großen Rf-Werte und wegen der Bildungsbedingungen (Seite 7o) kann angenommen werden, daß es sich um Anhydrogenine handelt.

b) Aus Roh-Digipurpurogenin (I):

1,5 g Mutterlauge, die vorwiegend Dpng I neben Dpng II und Png enthielt, wurde in 15o ml Methanol gelöst und bei 75°C mit der gleichen Menge o,2n HCl (von 75°) versetzt. Nach 15 minütigem Erhitzen auf 75°C wurde das Gemisch wie üblich aufgearbeitet. Dabei fiel beim Eindampfen und Abkühlen ein weißer kristalliner Niederschlag aus, der abgesaugt und mit Wasser gewaschen wurde. Laut Pch bestand er vorwiegend aus Dpng II, das durch Png und einer Spur Dpng I verunreinigt war.

Durch Umkristallisieren aus Aceton wurden zwei Fraktionen von insgesamt 365 mg Dpng II erhalten, die vereinigt und nochmals umkristallisiert wurden. Dabei fielen 115 mg sehr reinen Digipurpurogenins II (Fp = 225-23o°C) an, von denen später 1oo mg acetyliert wurden; von dem Ansatz konnte das Digipurpurogenin(II)-Acetat isoliert werden.

Das F i l t r a t des Niederschlags (siehe oben) wurde wie üblich mit Cf ausgeschüttelt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels hinterblieb ein Rückstand von 1,1 g, der aus Aceton umkristallisiert, 11o mg Dpng II ergab, das noch Spuren von Dpng I enthielt.

Dies Kristallisat wurde mit 13o mg einer 3. Kristallfraktion obigen Niederschlags und mit der Mutterlauge der zweiten Kristallisation vereinigt (zusammen 44o mg) und aus M/W umkristallisiert. Das führte zu ca. 2oo mg Digipurpurogenin II, das noch relativ viel Purpnigenin enthielt und (daher) nach Acetylierung weitere Isolierung von Dpng(II)-Acetat verhinderte (siehe oben).

Die Mutterlaugen enthielten relativ viel Dpng I neben Dpng II und Png. Außerdem zeigten sich im Pch je drei weit- und kurz-laufende Flecke. Bei den Verbindungen mit großen Rf-Werten handelte es sich, wie auf der vorigen Seite bereits ausgeführt, vermutlich um Anhydrogenine.

Diejenigen mit kleinen Rf-Werten entsprachen papierchromatographisch den unter Iso-Digipurpurogenin besprochenen Verbindungen. - 5oo mg Dpng(I)-Kristallisat, das gleichfalls stark Png-haltig war, wurde wie auf der vorigen Seite beschrieben, mit Säure behandelt. Bei der Aufarbeitung fiel gleichfalls ein weißer kristalliner Niederschlag aus, der diesmal aber vorwiegend aus Purpnigenin bestand (34o mg), wie ein papierchromatographischer Vergleich mit authentischer Substanz von D.SATOH ergab.

Das Filtrat wurde wie üblich aufgearbeitet. Dabei hinterblieben 17o mg Cf-Rückstand, aus denen durch Umkristallisieren aus An/Pä nochmals 5o mg Digipurpurogenin II gewonnen werden konnten (Fp = 21o-22o°C). Nach Acetylierung ließ sich auch bei diesem Kristallisat k e in Dpng(II)-Acetat durch Umkristallisieren isolieren. Die Mutterlauge enthielt einen kurzlaufenden, mit $SbCl_3$ blau fluoreszierenden Stoff stark angereichert, der durch Isomerisierung von Purpnigenin entstanden sein muß (Vgl. folgende Seite).

c) Eigenschaften des Digipurpurogenins II:

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{21} = + 25 \pm 4^\circ$ (c = 1,oo; M)

Spektren: UV-Maximum bei 211mμ ($\log\varepsilon = 3,o1$)
IR-Banden bei 343o cm^{-1} und 1685 cm^{-1}

Rf-Werte (Systeme): o,35(I), o,5o(III), o,2o(IV), o,o5(V)

Farbreaktionen: $SbCl_3$ (Papier) scharlachrot(UV) dgl.
KEDDE, TTC und VISCONTINI negativ
TNM und WITTER u. STONE positiv

5. Iso-Digipurpurogenin

a) Bildung:

1o mg Digipurpurogenin I wurden in 1 ml M/Cf(1:1) gelöst und mit o,o2 ml 5%-iger methanolischer Kalilauge über Nacht stehen gelassen. Dann wurde die gelb gefärbte Lösung mit Wasser versetzt und i.V. eingeengt. Der Eindampfrückstand wurde zwischen Chloroform und Wasser verteilt und die vereinigten Cf-Phasen i.V. zur Trockne eingedampft.

Das Papierchromatogramm des Cf-Rückstandes zeigte, daß neben etwas unverändertem Dpng I mit $SbCl_3$ ein neuer Fleck mit kleinerem Rf-Wert entstanden war, der bei Tageslicht und unter der UV-Lampe orange gefärbt war. Zum Vergleich aufgesetztes Dpng II läuft zwar auch kürzer als Dpng I, aber doch wesentlich weiter als Iso-Digipurpurogenin. Die $SbCl_3$-Färbung ist außerdem ganz anders.

Unter gleichen Bedingungen bildeten Digipurpurogenin II und Purpnigenin k e i n e entsprechenden Isogenine. Die Ansätze wurden mehrfach wiederholt und tagelang stehen gelassen. Papierchromatographisch waren lediglich Spuren festzustellen, die auch bei s a u r e r Isomerisierung beobachtet worden sind: Rf-Werte ($SbCl_3$) o,2o (rot) bzw. o,3o (blau).

b) Isolierung:

5oo mg Digipurpurogenin I wurden wie oben beschrieben isomerisiert. Das Pch des wie üblich aufgearbeiteten Rohprodukts zeigte das übliche Bild, d.h. außer dem Hauptfleck des neu gebildeten Iso-Digipurpurogenins war noch restliches Ausgangsgenin zu erkennen. Daher wurde erneut über Nacht alkalisch stehen gelassen. Dann war im noch nicht aufgearbeiteten Ansatz kaum noch papierchromatographisch Dpng I zu erkennen.

Bei der üblichen Aufarbeitung fiel nun beim Eindampfen der feuchten Chloroform-Lösung ein kristalliner Niederschlag aus, der nach dem Papierchromatogramm Iso-Digipurpurogenin war; insgesamt wurden auf diese Weise 31o mg erhalten. Die Substanz hatte einen Doppel-Schmelzpunkt (Seite 12) von 95/19o-195°C und einen hohen Trocknungsverlust von ca. 3o%. Daher muß angenommen werden, daß es sich um eine Additions-Verbindung des Iso-Digipurpurins mit 1 Mol Chloroform handelte. Im Gegensatz zu Digipurpurogenin I läßt sich diese Additionsverbindung unter den zur Trocknung der Analysen-Substanzen üblichen Bedingungen restlos zersetzen.

Später wurde auch lösungsmittelfreies Iso-Digipurpurogenin isoliert, das die gleiche Zusammensetzung wie das getrocknete obige Präparat und den gleichen Schmelzpunkt wie jenes hatte. Die spezifischen Drehungen unterschieden sich beträchtlich, als sie mit der Additions- bzw. der lösungsmittelfreien Verbindung bestimmt wurden. Bei rechnerischer Berücksichtigung desCf-Gehaltes wurde gute Übereinstimmung erzielt (siehe unten).

c) Eigenschaften des Iso-Digipurpurogenins:

Analyse: $C_{21}H_{32}O_4$ (348,47) Ber. C 72,38 H 9,26
(Cf-frei) Gef. C 72,o6 H 9,o3

Spezifische Drehungen:

$[\alpha]_D^{22} = -2o^o \pm 2^o$ (c=1,2o; M) (Cf-Addukt)
$[\alpha]_D^{22} = -29^o \pm 2^o$ (Cf-Addukt korrigiert)
$[\alpha]_D^{22} = -29^o \pm 2^o$ (c=1,25; M) (An/Pä)

Spektren: UV-Absorption bei 211mμ (log ε = 3,o5)
IR-Bande bei 343o cm^{-1}; keine CO-Banden

Rf-Werte: o,25 (I) und o,1o (III)
Farbreaktionen: $SbCl_3$ (Papier) orange (UV) orange
KEDDE, VISCONTINI u. mit TTC: negativ
WITTER u. STONE u. mit TNM: positiv

6. Iso-Digipurpurogenin-ketal

a) Ketalisierungs-Bedingungen:

Je 1o mg Iso-Digipurpurogenin wurden folgenden Bedingungen ausgesetzt und papierchromatographisch untersucht:

(1) Stehen in Cf/M-Lösung zeigte bereits nach wenigen Stunden Bildung des Iso-ketals an, die sich im Laufe von Tagen wesentlich verstärkte, aber in keinem Falle bis zum völligen Verschwinden des eingesetzten Iso-Digipurpurogenins führte. Von mehreren Ansätzen bildete sich bei einem im Gegensatz zu den übrigen kaum Iso-Dpng-ketal.

(2) Tagelanges Stehen in reinem Methanol führte n i c h t zur Bildung von Iso-Digipurpurogenin-ketal.

(3) Das gleiche war der Fall, als Chloroform allein als Lösungsmittel verwendet wurde.

(4) Unter Spaltbedingungen bildete sich ebenfalls aus Iso-Digipurpurogenin dessen Ketal:

(a) 3o-stündiges Stehen in o,1n HCL (M/W 1:1) führte nur in sehr geringem Maße zu einer Ketalisierung.

(b) Diese Lösung wurde 5 min auf 75°C erhitzt und dann wie üblich aufgearbeitet. Dadurch war aus dem Iso-Digipurpurogenin vorwiegend dessen Ketal entstanden.

(5) Um die spaltende Wirkung des Wassers auszuschließen, wurde in einem weiteren Versuch in methanolischer Lösung mit wenig Schwefelsäure stehen gelassen. Auch dadurch wurde Iso-Digipurpurogenin-ketal gebildet.

(6) Unter a l k a l i s c h e n Isomerisierungsbedingungen fand keine Ketalisierung von Iso-Digipurpurogenin statt. Das gleiche wurde bei präparativen Ansätzen beobachtet.

b) Isolierung des Iso-Digipurpurogenin-ketals:

Das Rohprodukt eines 5oo mg-Isogenin-Ansatzes, das zur Hauptsache aus dessen Ketal bestand, da es längere Zeit in Cf/M-Lösung gestanden hatte (Seite 19), wurde an Al_2O_3 aufgezogen chromatographiert.

Nr.	Eluierungsmittel	Menge	Papierchromatogramme
I	Bz/Cf 2o%-ig 4oo ml	37o mg	Iso-Dpng und -Ketal
II	Chloroform 5o "	65 "	Iso-Dpng und Dpng I
III	Cf 1o% M 2oo "	25 "	Nachläufe

Die Sammelfraktion I wurde an 1o g Al_2O_3 (MZ 49oo) rechromatographiert.

Nr.	Eluierungsmittel	Menge	Papierchromatogramm
I	Benzol 5o ml	1o mg	Vorläufe
II	Bz 1o% Cf 1oo "	15 "	Iso-Dpng-ketal
III	" 3o% " 25o "	12o "	Ketal + wenig Iso-Dpng
IV	" 6o% " 3oo "	12o "	Iso-Dpng + wenig Ketal

Umkristallisieren der beiden Sammelfraktionen III und IV gelang nur bei IV (aus An/Pä) und führte zur Isolierung von lösungsmittel-freiem Iso-Digipurpurogenin.

Die Mutterlauge davon wurde mit III vereinigt und einige Tage lang in Cf/M-Lösung stehen gelassen. Dann zeigte das Pch nur noch wenig Iso-Digipurpurogenin neben sehr viel Ketal an. Desto verwunderlicher war es, daß beim Umkristallisieren (aus An/Pä) als 1. Kristallfraktion Isogenin erschien. Dadurch wurde das restliche Isogenin aus dem Gemisch praktisch entfernt, und die Isolierung des Ketals gelang. Die 2. Kristallfraktion bestand aus Iso-Digipurpurogenin-ketal, das nach erneutem Umkristallisieren papierchromatographisch rein war: Prismen vom Fp = 195 - 2o5°.

c) Eigenschaften des Iso-Dpng-ketals:

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{22} = -54 \pm 2^o$ (c = o,998; M)

IR-Spektrum: keine CO-Banden, OH-Bande bei 3388 cm^{-1}

Rf-Werte:o,9o(IV o,75(I) o,65(V) o,5o(VI) o,o5(VIII)

Farbreaktionen: $SbCl_3$(Papier) orange (UV) orange
KEDDE, TTC und VISCONTINI negativ
TNM und WITTER u. STONE positiv

d) Reaktionen des Iso-Dpng-ketals:

(1) Acetylierung: 5o mg Iso-Digipurpurogenin-ketal wurden wie auf Seite 68 beschrieben acetyliert und v o r der Aufarbeitung papierchromatographisch untersucht. Dabei zeigte sich, daß Iso-Dpng-Acetat-ketal entstanden war. Bei der Aufarbeitung dieses Ansatzes wurde das Acetat-ketal z.T. gespalten; neben restlichem Ketal war vorwiegend Iso-Dpng-Acetat pch festzustellen.

(2) Ketal-spaltung: Die Spaltung wurde mit dem Ketal des Iso-Digipurpurogenins folgendermaßen durchgeführt: 1o mg Iso-Dpng-ketal wurden in 1 ml Dioxan gelöst und 5 min lang mit dem gleichen Volumen o,2n HCL auf 7o°C erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung war das Reaktionsprodukt kristallin und zeigte im Pch die vollständige Rückbildung von Iso-Digipurpurogenin an.

7. OPPENAUER-Oxydationsprodukte

a) Oxydation von Digipurpurogenin I:

2oo mg Digipurpurogenin I wurden in 5 ml Cyclohexanon gelöst und auf 14o°C erhitzt. Dann wurde eine Lösung von 5oo mg Aluminium-isopropylat in 5 ml absolutem Xylol von gleichfalls 14o° hinzugegeben. Das Gemisch wurde noch insgesamt 5 min auf 14o° gehalten und dann mit 2,5 ml Wasser versetzt. Nach erneutem 5 minütigem Erhitzen auf 12o°C wurde abkühlen gelassen.

Daraufhin wurden weitere 4o ml Wasser zugegeben und anschließend wurde mehrfach mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Rückschüttlung der vereinigten Cf-Phasen mit Wasser wurde i.V. eingedampft. Als Rückstand hinterblieb 2 g gelbes Öl, das in der zehnfachen Menge M/W (1o:1) aufgenommen wurde. Diese Lösung wurde dann zweimal mit je 2o ml Petroläther ausgeschüttelt. Daraufhin wurden b e i d e Phasen i.V. eingedampft und die Rückstände papierchromatographisch untersucht. Als dadurch festgestellt worden war, daß die Petroläther-Phase k e i n e interessierenden Substanzen enthielt, wurde diese verworfen.

Die Methanol-Phase enthielt dagegen - entsprechend dem Befund von GRIMMER (19)- außer nicht umgesetztem Ausgangsgenin m e h r e r e Verbindungen, die im unangefärbten Papierchromatogramm Löschung unter der UV-Lampe von 254mμ zeigten (Seite 2o). Solche Substanzen ließen sich mit Natronlauge anfärben: bei UV-Licht von 366mμ fluoreszierten sie stark gelb; mit $SbCl_3$ erfolgte dagegen keine Färbung (weder bei Tages- noch bei UV-Licht). Das Rohprodukt enthielt z w e i löschende Ketone, die als das Triketon und Diketon von GRIMMER durch Pch identifiziert wurden. Daneben waren zwei Substanzen zu erkennen, die keine selektive UV-Absorption (bei 24omμ) zeigten, sich aber mit $SbCl_3$ anfärben ließen: außer Dpng I war dies die Verbindung, die auf Seite 25 beschrieben wurde .

b) Isolierung von Digipurpurogenon:

Der Methanol-Rückstand wurde anschließend an 1o g Al_2O_3 (MZ 64oo) chromatographiert. Die 45o mg gelbes Öl, die noch nach Cyclohexanon rochen, wurden in Benzol gelöst auf die Säule gegeben; die Fraktionsgröße betrug 25 ml.

Nr.	Eluierungsmittel	Mengen	Papierchromatogramme
I	Pä/Bz 2oo ml	4o mg	Vorläufe
II	Benzol 75 "	7o "	I
III	Bz 2o% Cf 25 "	2o "	(I) + II
IV	" 5o% " 5o "	4o "	II + III
V	Chloroform 5o "	15 "	III + IV
VI	Cf 1% M 5o "	15 "	Nachläufe
VII	" 4% " 225 "	35 "	"

Bedeutung der letzten Spalte: Bezeichnungen der Tabelle auf Seite 65 (1.Spalte).

Die Sammelfraktion II wurde aus An/Pä umkristallisiert, wobei 28 mg papierchromatographisch reines Digipurpurogenon gewonnen werden konnten (175-18o°C).

Die Mutterlauge wurde mit den Fraktionen III und IV vereint und zusammen mit einem neuen Ansatz erneut chromatographiert.

c) Eigenschaften des Digipurpurogenons:

Analyse: $C_{21}H_{28}O_4$ (344,44) Ber. C 73,22 H 8,19
Gef. C 72,85 H 8,23

Spektren: UV-Maximum bei 24omμ ($\log\varepsilon = 4,2$)
IR-Banden bei 336o; 1695, 167o, 162o cm^{-1}

Rf-Werte: o,95(IV) o,8o(II) o,75(I) o,7o(VI) o,3o(VII)

Farbreaktionen: $SbCl_3$ (Papier) k e i n e Anfärbung
NaOH (Papier) gelb (UV) gelb
TTC (Papier) schwach positiv
KEDDE und VISCONTINI: negativ

d) Weitere Oxydationsprodukte:

Um noch mehr Digipurpurogenon und eventuell auch andere Oxydationsprodukte isolieren zu können, wurde die OPPENAUER-Oxydation mit 2 g Digipurpurogenin I wiederholt. Die Oxydation und die Aufarbeitung erfolgten wie unter (a) beschrieben; das R o h p r o d u k t zeigte papierchromatographisch das gleiche Bild wie der Methanol-Rückstand des ersten Oxydations-Ansatzes.

Anschließend wurde an 1o g Al_2O_3 (Mz 64oo) aufgezogen und an 1oo g Al_2O_3 gleicher Korngröße chromatographiert.

Nr.	Eluierungsmittel	Mengen		Papierchromatogramme
I	Pä/Bz (1:1)	5oo ml	28o mg	Vorläufe
II	Benzol	1ooo "	65 "	"
III	Bz 5o% Cf	5oo "	1o55 "	I, II + III
IV	" 8o% "	25o "	35o "	vorwiegend IV
V	Chloroform	75o "	345 "	IV, (V) + VI
VI	Cf 2% M	75o "	15o "	Nachläufe

Es wurde versucht, die Sammelfraktionen III und IV umzukristallisieren, was aber nur bei IV (aus Eg/Ä) gelang. Auf diese Weise konnten ca. 2oo mg Digipurpurogenin I zurückgewonnen werden.

Die Fraktion III wurde mit alten (vorige Seite) vereinigt und an 9o g Al_2O_3 (MZ 64oo) rechromatographiert, wobei Fraktionen zu je 1oo ml Eluat genommen wurden.

Nr.	Eluierungsmittel		Mengen	Papierchromatogramme
I	Benzol	4oo ml	1o mg	Vorläufe
II	Bz 3o% Cf	8oo "	225 "	I + V
III	" 5o% "	2oo "	245 "	I + V
IV	" 8o% "	1oo "	45 "	V
V	Chloroform	5oo "	35o "	III + V
VI	Cf 1% M	1oo "	85 "	III + V + IV
VII	" 4% "	1oo "	5o "	IV +VI
VIII	" 5o% "	3oo "	15 "	Nachläufe

Rechromatographie von Sammelfraktion II führte zu weiterer Isolierung von Digipurpurogenon; durch Umkristallisieren wurden insgesamt 58 mg davon erhalten. Die zweite Komponente der Fraktion (V = "Diketon" von MACHLEIDT) konnte n i c h t isoliert werden.

Die Sammelfraktion V wurde an 14 g Al_2O_3 (MZ 49oo) rechro -matographiert; die Fraktionsgröße betrug dabei 25 ml.

Nr.	Eluierungsmittel		Mengen	Papierchromatogramme
I	Benzol	15o ml	3o mg	Vorläufe
II	Bz 3o% Cf	5o "	55 "	I + V
III	" 5o% "	1oo "	75 "	I, III + V
IV	Chloroform	2oo "	17o "	III + V

Hier erfolgte k e i n e weitere Trennung des GRIMMER-Diketons von seinem Umwandlungsprodukt ("Diketon" nach MACHLEIDT), das sich bei der vorigen Chromatographie in großer Menge gebildet hatte. Im Rohprodukt (vorige Seite) war papierchromatographisch k e i n MACHLEIDT-"Diketon" zu bemerken gewesen.

e) Diketon-Umwandlung an Al_2O_3:

Um solche Umwandlung zu studieren, wurden Proben von GRIMMER-Diketon und Digipurpurogenon wie üblich an Al_2O_3 aufgezogen bzw. in Chloroform gelöst auf kleine Säulen gebracht. Nach Stehen über Nacht wurde mit Cf eluiert und nach dem Eindampfen (i.V.) papierchromatographisch untersucht:

1. Beim Digipurpurogenon zeigte sich trotz tagelangen Stehens auf der Säule k e i n e Veränderung

2. Beim Diketon (nach GRIMMER) war dagegen bereits über Nacht ein wesentlich kürzer laufender Fleck entstanden, der ebenfalls Löschung zeigte. Nach Vergleich mit authentischem "Diketon" von MACHLEIDT handelte es sich bei dem Umwandlungsprodukt ohne Zweifel um diese Verbindung.

Zusammenstellung a l l e r Verbindungen, die bei OPPENAUER-Oxydation und deren Aufarbeitung auftraten:

Nr.	Rf-Werte	Löschung	NaOH	$SbCl_3$	Bezeichnungen
I	o,75	+	gelb	-	Digipurpurogenon
II	o,65	-	-	orange	"MARQUARDT-Diketon"(?)
III	o,55	+	gelb	-	GRIMMER-Diketon
IV	o,4o	-	-	rot	Digipurpurogenin I
V	o,3o	+	gelb	-	MACHLEIDT-"Diketon"
VI	o,25	-	-	.orange	Iso-Dpng

Über die Verbindung II siehe Seite 25. Die Rf-Werte in der Spalte 2 beziehen sich auf das System I.

8. Digipurpurogenin (I)-Acetat

100 mg Dpng I wurden in 2 ml Py und 1 ml Ac_2O gelöst und 40 h lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt wurde aus M/W und aus An/Pä umkristallisiert. Auf diese Weise wurden 53 mg vom Fp 189-191°C erhalten.

Analyse: $C_{25}H_{36}O_6$ (432,54) Ber. C 69,42 H 8,39
Gef. C 69,42 H 8,36

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{19} = +91 \pm 2^o$ (c = 1,33; Cf)

IR-Spektrum: Banden bei 3395; 1735, 1700; 1365, 1245 cm^{-1}

Rf-Werte: 0,06 (IX) 0,75 (VIII)

Farbreaktionen: $SbCl_3$ (Papier) violett (UV) gelb
KEDDE, VISCONTINI: negativ
TTC schwach, TNM stark positiv

9. Digipurpurogenin (II)-Acetat

100 mg Dpng II wurden wie oben beschrieben acetyliert. Durch mehrfaches Umkristallisieren aus M/W konnten 35 mg vom Fp 166 - 171°C erhalten werden.

Analyse: $C_{25}H_{36}O_6$ (432,54) Ber. C 69,42 H 8,39
Gef. C 69,25 H 8,85

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +26 \pm 2^o$ (c = 1,00; M)

Rf-Werte: 0,08 (IX) 0,80 (VIII)

Farbreaktionen: $SbCl_3$ (Papier) rot (UV) rot
KEDDE und VISCONTINI: negativ
TTC schwach, TNM stark positiv

10. Iso-Digipurpurogenin-Acetat

100 mg Iso-Dpng wurden wie üblich acetyliert und mehrmals aus An/Pä umkristallisiert: 50 mg vom Fp = 167 - 172°C.

Spezifische Drehung $[\alpha]_D^{18} = -55 \pm 2^\circ$ (c = 1,33; Cf)

IR-Spektrum: Banden bei 3410; 3530; 1730; 1360, 1260 cm^{-1}

Rf-Werte 0,05(VIII) 0,55(VI) 0,80(I)

Farbreaktionen: $SbCl_3$(Papier) orange (UV) orange
TTC, KEDDE und VISCONTINI: negativ
Tetranitromethan positiv

11. Iso-Digipurpurogenin-Acetat-ketal

Aus der Mutterlauge des Iso-Dpng-Acetats (oben) wurden nach mehrtägigem Stehen in M/Cf durch Umkristallisieren 15 mg Iso-Dpng-Acetat-ketal vom Fp = 145 - 150°C erhalten.

Analyse: $C_{24}H_{36}O_5$ (404,53) Ber. C 71,25 H 8,97
Gef. C 71,48 H 9,12

IR-Spektrum: Banden bei 3480; 1725; 1375, 1260 cm^{-1}

Rf-Werte: 0,10(IX) 0,85(VIII)

Farbreaktionen: $SbCl_3$(Papier) orange (UV) orange
TTC, KEDDE und VISCONTINI: negativ
Tetranitromethan: positiv

12. Wasserabspaltungs-Versuche

a) Mit Digipurpurogenon:

(1) 3 mg Triketon (Seite 22) wurden in 1 ml Methanol gelöst und mit 1 ml 2n-HCl 3o min lang am Rückfluß gekocht. Dann wurde wie üblich aufgearbeitet; es hinterblieben 3 mg Rückstand, der nach dem Pch unverändert aus Digipurpurogenon bestand.

(2) 3,5 mg Digipurpurogenon wurden mit 35 mg Pyridin und 2,35 mg $SOCl_2$ 5 min lang bei 0^oC gehalten und dann unter Kühlung mit Wasser versetzt. Anschließend wurde mehrfach mit Chloroform und Wasser abgedampft und der Cf-Rückstand papierchromatographisch untersucht. Auch bei diesem Ansatz war keine Wasserabspaltung erfolgt.

(3) 25 mg Triketon wurden wie unter (2) beschrieben mit den entsprechenden Mengen Pyridin und Thionylchlorid behandelt. Diesmal war die Wasserabspaltung gelungen, denn im Papierchromatogramm zeigte sich ein neuer Fleck, der gleichfalls Löschung (Seite 2o) zeigte und dessen Rf-Wert (o,9o) größer als der des eingesetzten Stoffes (o,7o) war (System VI). Isolierung durch Umkristallisieren gelang bei diesem Ansatz nicht.

(4) Daher wurde noch mehr Digipurpurogenon eingesetzt, als eine entsprechende Menge davon isoliert worden war. Aber auch dabei gelang es nicht, das Anhydro-Digipurpurogenon durch Umkristallisieren zu isolieren.

Daher wurde die gesamte Menge aus den Ansätzen (3) und (4) vereinigt an Al_2O_3 aufgezogen und chromatographiert. Dabei muß sich das Anhydroprodukt weitgehend zersetzt haben, denn es wurden nur etwa 1o% eluiert, während derAnsatz überwiegend daraus bestanden hatte.

b) Mit Digipurpurogenin I:

1o mg Dpng I wurden in 1 ml Methanol gelöst und mit 1 ml 1o%-iger Salzsäure 7 h lang am Rückfluß gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung hinterblieb ein gelbes Öl, dessen Pch zeigte, daß das Ausgangsprodukt restlos umgesetzt war. Es war aber eine Reihe von Reaktionsprodukten entstanden, die im System I mit der Front liefen, sich im System VIII aber zu mindestens 6 Flecken trennen ließen. Von diesen zeigte keiner Löschung, einige dagegen starke Fluoreszenz im UV beim unangefärbten Pch.

c) Mit Digipurpurogenin(I)-Acetat:

35 mg Dpng(I)-Acetat wurden mit o,3o ml Pyridin und o,o1 ml $SOCl_2$ umgesetzt und wie üblich aufgearbeitet. Dadurch wurde ein Reaktionsprodukt erhalten, das nur nohh wenig Ausgangs-Acetat enthielt. Weil durch Umkristallisieren keine Isolierung gelang, wurde die Wasserabspaltung mit 13o mg Dpng(I)-Acetat wiederholt. Diesmal war die Umsetzung vollständig verlaufen, und es gelang durch Umkristallisieren aus Methanol 48 mg Anhydro-Digipurpurogenin(I)-Acetat vom Fp = 18o-19o°C zu isolieren; Rf-Wert = o,17 (IX).

Analyse: $C_{25}H_{34}O_5$ (414,52) Ber. C 72,43 H 8,27
Gef. C 71,94 H 8,45

Spezifische Drehung: $[\alpha]_D^{18} = +4o^o \pm 2^o$ (c = 1,o2; Cf)

Spektren: UV-Maximum bei 212mμ ($\log \varepsilon = 3,5$)
IR-Banden bei 173o,17oo; 1365,124o cm^{-1}

Farbreaktionen: $SbCl_3$(Papier) violett (UV) gelb
KEDDE und VISCONTINI: negativ
TTC schwach, TNM stark positiv

d) Mit Digipurpurogenin (II)-Acetat:

15 mg Dpng(II)-Acetat wurden mit o,2 ml Pyridin und o,o1 ml $SOCl_2$ behandelt. Die übliche Aufarbeitung führte zu einem Produkt, das neben relativ viel nicht umgesetzten Acetats (o,o8) eine Verbindung vom Rf-Wert o,19(IX) enthielt. Diese wies auf dem Papier die gleiche Färbung mit $SbCl_3$ auf wie das Ausgangsprodukt (bei Tages- und UV-Licht rot).

Es darf wohl angenommen werden, daß es sich bei dieser Verbindung um Anhydro-Digipurpurogenin(II)-Acetat handelte. Die Wasserabspaltung war wie beim Acetat des Digipurpurogenins I verlaufen. Eine Isolierung scheiterte an der vermutlich zu geringen Menge des Ausgangsmaterials (Seite 31).

e) Mit Iso-Digipurpurogenin-Acetat:

3o mg Iso-Digipurpurogenin-Acetat wurden mit o,3 ml Pyridin und o,o1 ml $SOCl_2$ behandelt und wie üblich aufgearbeitet. Die Wasserspaltung verlief nicht so glatt wie bei den Acetaten von Dpng I und Dpng II, sie führte zu insgesamt d r e i Reaktionsprodukten, die sich wie alle Verbindungen der Iso-Reihe mit $SbCl_3$ orange anfärben lassen.

Nr.	Rf-Werte		Mengen	Vermutete Verbindungen
1	o,95	1,oo	viel	$\Delta^{14:2o}$-Dianhydro-Iso-Dpng-Acetat(?)
2	o,16	1,oo	viel	Δ^{2o}-Anhydro-Iso-Dpng-Acetat(?)
3	o,o6	o,74	wenig	Δ^{14}-Anhydro-Iso-Dpng-Acetat(?)
4	o,oo	o,o4	wenig	Iso-Digipurpurogenin-Acetat

Die Rf-Werte beziehen sich auf die Systeme IX bzw. VIII. Isolierung gelang bei keiner dieser Anhydro-Verbindungen, daher sind die Zuordnungen bei den Verbindungen 1 - 3 fraglich (vgl. Seite 39).

Z u s a m m e n f a s s u n g

Digipurpurin zerfällt bei der Säurehydrolyse in D-Digitoxose und in sog. Digipurpurogenin I. Dies wandelt sich unter verschärften Spaltbedingungen in das isomere Digipurpurogenin II um. Alkalische Isomerisierung führt zu Iso-Digipurpurogenin. Alle drei Genine haben die gleiche Zusammensetzung $C_{21}H_{32}O_4$. Bisher ist es nicht gelungen, "wahres" Digipurpurogenin, $C_{21}H_{34}H_5$, im Sinne der Glykosid-Formel $C_{39}H_{64}O_{14}$ zu fassen.

Während Dpng I und Dpng II eine Ketogruppe enthalten, ist im IR-Spektrum des Isogenins k e i n e Carbonyl-Bande festzustellen. Dies wird auf die Bildung eines Halbketal-Ringes bei der Umwandlung von Digipurpurogenin I in Iso-Digipurpurogenin zurückgeführt. Beim Stehen in methanolischer Chloroform-Lösung entsteht das Methylketal, das sich mit Säure wieder spalten läßt.

Oxydation (nach OPPENAUER bzw. mit KILIANI-Lösung) führt bei Dpng I und Dpng II zum gleichen Hauptprodukt, einem konjugiert ungesättigten Keton. Mit Thionylchlorid/Pyridin läßt sich daraus Wasser abspalten.

Bei der Acetylierung (mit Acetanhydrid/Pyridin) bilden Dpng I und Dpng II Diacetate, Iso-Dpng dagegen ein Monoacetat, das sich wie das Isogenin selbst leicht ketalisieren läßt. Aus diesen Acetaten läßt sich ebenfalls mit $SOCl_2$/Pyridin leicht Wasser abspalten. Beim Iso-Dpng-Acetat führt diese Reaktion zu mehreren Anhydroprodukten, während sie bei den beiden anderen Acetaten einheitlich verläuft.

Auf Grund der Versuchsergebnisse wird angenommen, daß Digipurpurogenin I Δ^5-3ß,12α,14α-Trihydroxy-2o-keto-Pregnen, und Digipurpurogenin II die entsprechende 12ß-Verbindung sind. Iso-Digipurpurogenin und dessen Methylketal dürften dann Δ^5-3ß,14α,2o-Trihydroxy-12:2o-epoxy-pregnen bzw. Δ^5-3ß,14α,-Dihydroxy-2o-methoxy-12:2o-epoxy-pregnen sein.

L i t e r a t u r ü b e r s i c h t

(1) R. TSCHESCHE u. G. GRIMMER, Berichte 88,1569(1955)

(2) "Ciba"-Foundation, London 1950; Helv.34,1680(1951)

(3) R.TSCHESCHE u. G.BUSCHAUER, Annalen 603, 59(1957)

(4) L.F.FIESER u. M.FIESER,"Natural Products related to Phenanthrene", 3. Auflage, New York, 1949

(5) H.LETTRE, H.INHOFFEN u. R.TSCHESCHE, "Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Naturstoffe", 2.Auflage, Band I, F. ENKE Verlag, Stuttgart, 1954

(6) Ch.TAMM, Fortschr.d.Chemie org.Naturst.13,137(1956)

(7) Ch.TAMM, Fortschr.d.Chemie org.Naturst.14, 72(1957)

(8) A.STOLL u. E.JUCKER, "Steroidsaponine" in: K.PAECH u. M.V.TRACY,"Moderne Methoden der Planzenanalyse", Berlin 1955, 176

(9) W.KARRER, Festschrift E.C.Barell, Basel 1936, 238

(10) D.SATOH, K.Yoshida, H.ISHII u. Y.NISHIMURA, Pharm. Bull. Jap. 1, 305 u. 396 (1953)

(11) D.SATOH, H.ISHII, Y.OYAMA u. T.OKUMURA, Kakugaku-Zasshi 75, 1025 u. 1573(1955)

(12) D.SATOH, H.ISHII, Y.OYAMA, T.WANDA u. T.OKUMURA, Pharm. Bull. Jap. 4, 284 (1956)

(13) D.SATOH, H.ISHII, Y.OYAMA, T.WANDA u. T.OKUMURA, Pharm. Bull. Jap. 5, 253 (1957)

(14) D.SATOH, Yakugaku-Zasshi 79, 1474 (1959)

(15) D.SATOH, H.ISHII u. Y.OYAMA, Curr.papers 8,657(1960)

(16) A.STOLL u.J.RENZ, Verhandlg. d. Naturforsch. Ges. Basel, 67, 392 (1956)

(17) A.L.GUL, A.C.CARRAMINANA u. E.P.YUFERA, A.Real Soc. espan. Fisica Quim., Ser.B 54(B), 761 (1958)

(18) R. REPIC u. CH.TAMM, Helvetia 40, 639 (1957)

(19) G.GRIMMER, Privatmitteilung,bisher unveröffentlicht

(2o) H.MACHLEIDT, Privatmitteilung,bisher unveröffentlicht

(21) H.W.MARQUARDT, vgl. die vorliegende Arbeit

(22) C.W.SHOPPEE u. T.REICHSTEIN, Helv. 23, 975(194o)

(23) C.W.SHOPPEE u. T.REICHSTEIN, Helv. 25,1611(1942)

(24) C.W.SHOPPEE, Helvetia 27, 246 u. 426(1944)

(25) J.PRESS u. T.REICHSTEIN, Helv. 3o, 2127(1947)

(26) R.TSCHESCHE, G.LIPP u. G.GRIMMER, Ann.6o6,16o(1957)

(27) R.TSCHESCHE u. G.LIPP, Annalen 615, 21o (1958)

(28) G.MÜLLER, Dissertation, Hamburg 1961

(29) R.TSCHESCHE, W.HAMMERSCHMIDT u. G.GRIMMER, Annalen 614, 136 (1958)

(3o) W.HAMMERSCHMIDT, Dissertation, Hamburg 196o

(31) R.NEHER, "Chromatographie von Sterinen, Steroiden und verwandten Verbindungen", Elsevier Publishing Company, Amsterdam 1958

(32) F.KAISER, Berichte 88, 556(1955)

(33) D.LAWDAY, Nature 17o, 415 (1952)

(34) H.W.MARQUARDT, Diplomarbeit, Hamburg 1959

(35) R.F.WITTER u. S.STONE, Analytic.Che.29,156(1957)

(36) L.RUZICKA,H.W.HUYSER, M.PFEIFFER u.C.F.SEIDEL, Annalen 471, 21(1929)

(37) D.L.KEDDE, Dissertation, Leyden; Ausführung nach: J.E.BUSH u. D.A.TAYLOR, Biochem.J. 52, 643(1952)

(38) R.B.BURTON, A.ZAFFARONI u. E.H.KEUTMANN, J.biol. Chem. 188, 763(1951); Ausführung nach: O.LÜDERITZ u. O.WESTPHAL, Z.Naturf. 7b, 548(1952)

(39) M.VISCONTINI, D.HOCH u. P.KARRER,Helv.38,643(1955)

(4o) A.BUTENANDT u.J.SCHMIDT-THOME, Ber. 69, 882(1936)

(41) L.F.FIESER, Organic Syntheses 35, 43(1955)

(42) R.V.OPPENAUER, Rec. trav. chim. 56, 137(1937)

(43) C.DJERASSEI, Organic React. 6, 2o7 (1951)

(44) K.BOWDEN, J.M.HELLBRON, E.R.H.JONES u.B.C.L.WEEDEN, J. Chem. Soc. 1946, 39(1946)

(45) P.BLADEN, J.M.FABIAN, H.B.HENBST, H.P.KOCH u. G.W.WOOD, J. Chem. Soc. 1951, 24o2(1951)

(46) J.POLONIA, A.KURITZKES, H.JÄGER u. T.REICHSTEIN, Helvetia 42, 1437 (1959)

(47) C. DJERASSI, R.R.ENGLE u. A.BOWERS, J. of Organic Chemistry 21, 1547(1956)

(48) L.F.FIESER, J. Am. ch. Soc. 75, 5421(1953)

(49) L.F.FIESER u. S.RAGAGOPALAS, J. Am.ch.Soc.73,118(1951)

(5o) L.F.FIESER, J. Am. chem. Soc. 75, 4377(1953)

(51) L.H.SARETT, J.Am.chem.Soc. 71, 1165(1949)

(52) F.HOLLOWAY, M.COHEN u. F.H.WESTHEIMER, J. Am. chem. Soc. 7o, 3827(1948)

(53) H.H.SISLER, J.D.BUSCH u. O.E.ACCAUNTIUS, J. Am. chem. Soc. 73, 62(1951)

(54) G.J.POOS, G.E.ARTH, R.E.BEYLER u. L.H.SARETT, J. Am. chem. Soc. 75, 425(1953)

(55) S.BERNSTEIN, M.HELLER u. S.M.STOLAR, J. Am. chem. Soc. 77, 5329(1955)

(56) S.BALL, T.W.GOODWIN u. R.A.MARTON, Biochem. J. 42, 516(1948)

(57) J.ATTENBURROW, J. Chem. Soc. 1952, 1o94

(58) H. REICH u. T.REICHSTEIN, Helv. 26, 562(1943)

(59) L.HORNER u. E.H. WINKELMANN, Angew.Chem.71,54(1959)

(6o) J.E.BUSH, Biochem. J. 5o, 37o(1952)

(61) R.TSCHESCHE u. G.SNATZKE, BERICHTE, 88, 15(1955)

(62) R.F.GODDIN, N.F.LEBLANC u. C.M.WRIGHT, Analytic. chem. 27, 1251 (1955)

(63) A.PLATTNER, L.RUZICKA, H.HEUSSER u. E.ANGLIKER, Helvetia 3o, 385 (1947)

(64) H.HEUSSER, M.ROTH, O.ROHR u.R. ANLIKER, Helvetia 38, 1178

(65) G.DARZENS, Compt.rend. 152, 16o1 (1911)

(66) L.F.FIESER u. M.FIESER, "Steroids"(Reinhold New York)

(67) R.N.JONES, P.HUMPHRIES, F.HERLING u. K.DOBRINER, J.Am.chem.Soc. 72, 86(195o)

(68) G.ROBERTS, B.S.JALLAGHER, R.N.JONES,"Infrared Absorption Spektra of Steroids" (Volume II)

(69) R.N.JONES u.F.HERLING, J.Am.ch.Soc.78, 1152

(7o) R.N.JONES, P.HUMPHRIES, F.HERLING u.K.DOBRINER, J.Am.chem. Soc. 73, 3215 (1951)

(71) R.N.JONES u.A.R.H.COLE, J.Am.ch.Soc. 74 5648(1952)

(72) G.GRIMMER, Annalen 636, 42(196o)

(73) A.LARDON, H.P. SIGG u. T. REICHSTEIN, Helvetia 42, 1457 (1959)

(74) C.DJERASSI, T.T. GROSSNICKLE u. L. B. HIGH, J. Am.chem.Soc. 78, 3172 (1956)

(75) H.LINDE u. K.MEYER, Helv. 42, 8o7 (1959)

(76) W.HÜCKEL, Angewandte Chemie 53, 49(194o)

(77) R.TSCHESCHE u. R.SEEHOFER, Berichte 86, 11o8(1954)

L e b e n s l a u f

Am 21. Januar 1929 wurde ich, Otto Hermann Hans-Wilhelm M a r q u a r d t als Sohn des Bankbeamten Wilhelm Marquardt und seiner Ehefrau Dora, geb. Baden in Soltau Hann. geboren.

Von 1935 bis 1939 besuchte ich die Grundschule in Soltau und trat dann auf die Oberschule Soltau über, die ich 1948 mit dem Reifezeugnis verließ.

Nach einjährigem Praktikum bei der Privilegierten Apotheke Soltau begann ich im Sommersemester 1949 das Studium der Chemie an der Universität Hamburg. Weil ich die praktischen Arbeiten erst einige Semester später aufnehmen konnte, besuchte ich zunächst auch Vorlesungen und Übungen in Mineralogie, Hygiene und Lebensmittelchemie.

Im Wintersemester 1953/54 legte ich die Diplom-Chemiker-Vorprüfung ab, und im Wintersemester 1956/57 bestand ich das Hauptexamen. Die anschließende Diplomarbeit über das Thema "Isothermer Abbau von Vanadintrichlorid-Hexahydrat" führte ich bei Herrn Prof. Dr. H. Remy aus. Im Anschluß daran nahm ich unter Leitung von Herrn Prof. Dr. R. Tschesche die Arbeiten für die hier vorliegende Dissertation auf.

In den letzten Semestern studierte ich Betriebswirtschaftslehre als Nebenfach.

Meine akademischen Lehrer waren die Professoren und Dozenten:

Arndt, Bode, Drescher-Kaden, Endres, Fettel, Fleischmann, Harmssen, Harteck, Henzler, Heyns, Holleck, Jantzen, Knauer, Remy, Rohde, Rose, Seischab, Schlubach, Tschesche und Werner.